

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## SUR LA RECHERCHE DU *B. COLI* DANS LES EAUX

par F. DIENERT et P. ÉTRILLARD.

Il est universellement admis que la bonne qualité d'une eau peut être appréciée par la recherche du *B. coli communis*. Ce germe, toujours présent dans l'intestin des hommes et des animaux, accompagne les germes des maladies d'origine hydrique contenus dans les matières fécales.

Quand, à l'analyse, on ne trouve pas de *B. coli communis* on en conclut que l'eau est de bonne qualité.

Cette conclusion n'est acceptable que sous les conditions suivantes :

1° L'analyse bactériologique est capable de déceler, avec certitude, le *B. coli communis* d'origine fécale, quand celui-ci existe dans l'eau.

2° Les propriétés absorbantes ou inhibitrices des matériaux constitutifs du sol ou des filtres, à travers lesquels circulent les eaux chargées de germes dangereux, sont identiques vis-à-vis du *B. coli communis* et des germes pathogènes.

3° Les propriétés antiseptiques des agents utilisés pour stériliser une eau sont identiques vis-à-vis du *B. coli communis* et des germes pathogènes.

Si le *B. coli* résiste mieux à ces différents facteurs que les germes pathogènes, une eau dans laquelle le *B. coli* aura disparu sera nécessairement exempte de microbes suspects.

Jusqu'ici, on a considéré presque sans démonstration que ces conditions étaient toutes entièrement remplies. Cette prétention est-elle exacte? C'est ce que nous allons examiner.

PREMIÈRE CONDITION. — L'analyse bactériologique est-elle capable de déceler, avec certitude, dans une eau, le *B. coli communis* d'origine fécale?

Le *B. coli* se trouve dans les eaux en quantités variables, mélangé à de nombreux autres. Pour l'isoler, le numérer et le caractériser on se sert de la méthode classique qui consiste à ensemençer l'eau dans un milieu liquide sélectif, où il proliférera plus vite que les autres germes. De cette culture primaire on prend une partie qu'on ensemençe sur milieux solides, sur lesquels il sera facile d'isoler le germe qui s'y est développé de préférence.

En réalité, on ne connaît aucun milieu véritablement sélectif pour le *B. coli communis*. Par l'emploi d'antiseptiques ou de matières colorantes, on crée un milieu dans lequel le *B. coli* se développe généralement mieux que les germes avec lesquels il est mélangé, mais ces substances antiseptiques ont, vis-à-vis des germes de *B. coli* ayant séjourné un certain temps dans l'eau, une action nettement inhibitrice.

En France, la méthode préférée est celle qui utilise le phénol ajouté, à la dose de 0,75 p. 1.000 dans les méthodes Vincent, de 1 p. 1.000 dans les méthodes Péré, Diénert, malgré les inconvénients que présente cet antiseptique.

Si nous préconisons un milieu nutritif additionné de 1 p. 1000 d'acide phénique, c'est parce que souvent nous avons constaté dans les milieux utilisant des doses moindres de phénol une culture très active de germes banaux.

On n'est jamais certain que ce soit le *B. coli communis* qui se développera le premier et de ne pas ensemençer un tout autre germe, quand on repiquera dans un deuxième bouillon phéniqué la culture à peine développée du premier bouillon ensemençé.

Chacun sait que, lors de l'ensemencement dans un milieu



nouveau une partie des germes ensemencés meurent et qu'il faut que ceux qui restent s'adaptent à ce dernier milieu. Si un germe banal, plus abondant que le *B. coli* dans l'eau ensemencée, s'habitue plus vite au bouillon phéniqué que ce dernier germe, il y a de fortes chances pour que ce soit lui qu'on réensemence dans le deuxième bouillon phéniqué. Ne décelant pas le *B. coli*, dans ce cas on en conclura indûment qu'il ne s'y trouvait pas. C'est souvent dans des eaux de rivière très contaminées que nous avons trouvé de ces anomalies dans la recherche du *B. coli*. En répartissant l'eau en quantités différentes dans une série de tubes, on arrive à obtenir, malgré la concurrence vitale, des tubes dans lesquels le *B. coli* a pris le dessus sur les autres espèces. On atténue ainsi un peu l'influence nuisible de la concurrence vitale.

Les Américains ont cherché un milieu sélectif, ne comportant aucune addition de substance inhibitrice, et certains ont préconisé simplement le bouillon additionné de lactose et quelquefois de bile.

Ce milieu, quoique ne comportant pas d'action inhibitrice, est encore l'objet d'une concurrence vitale active, et ce que nous avons dit pour les milieux phéniqués se répèterait encore ici.

Pour diminuer cette concurrence vitale on a préconisé la culture à 46° : les germes de *B. coli communis*, d'origine fécale et humaine, pouvant vivre à cette température.

On a oublié que la température élevée a les mêmes propriétés qu'une substance antiseptique et qu'elle possède également une action inhibitrice. On a dû avoir recours à l'introduction, dans le milieu, de matières colorantes, mais, quoi qu'on fasse, celles-ci ont une action inhibitrice, quelquefois peu prononcée mais indubitable.

A la suite de nos diverses recherches sur ce sujet, nous sommes arrivés à cette conception que la recherche du *B. coli communis* sur un milieu liquide est sujette à de nombreux aléas et que la première condition que nous avons posée pour admettre qu'une eau de bonne qualité est celle dans laquelle on ne décele pas le *B. coli* n'est pas toujours remplie.

Au contraire, en utilisant les milieux solides, sur lesquels les divers germes peuvent pousser séparément et à l'abri de

toute concurrence vitale, on peut faire cette recherche et cette numération avec le maximum de chances de réussite.

Nous avons décrit, dans les *Annales de l'Institut Pasteur* de 1929 (1), une méthode de recherche du *B. coli* sur milieu solide, qui, à ce point de vue, nous donne toute satisfaction.

Elle exige une manipulation préalable, celle de concentrer les microbes de l'eau sous un petit volume. On y arrive très facilement en utilisant l'alumine gélatineuse obtenue en précipitant le sulfate d'alumine par l'ammoniaque, et en lavant le précipité pour éliminer  $\text{NH}_3$  totalement.

Afin d'éviter la concurrence vitale, l'ensemencement doit se faire dans un volume de milieu solide tel que tous les germes ensemencés soient isolés sur le milieu de culture et puissent se développer isolément.

Il faut, en outre, que les colonies de *B. coli* soient faciles à différencier des autres espèces.

Le milieu de Teague, modifié comme nous l'avons indiqué dans notre précédent travail, répond à ces desiderata, mais on peut également utiliser le milieu d'Endo ou la gélose additionnée de lactose et de tournesol.

En opérant ainsi, et à la condition de faire convenablement la concentration de germes avec l'alumine, on obtient 95 p. 100 des germes de *B. coli* contenus dans le volume d'eau utilisé. Quelques germes vivront peut-être mal sur la gélose, mais ceci ne peut intéresser qu'une partie des cellules du *B. coli* et non toutes. On décèle peut-être un peu moins de germes, mais on les caractérise et c'est le principal.

En bactériologie, il ne faut pas compter sur une précision aussi grande que 95 p. 100; aussi estimons-nous que la méthode des milieux solides donne toute satisfaction pour rechercher et numérer en toute certitude les germes de *B. coli* qu'une eau renferme (2).

En utilisant une méthode de recherche du *B. coli* convenable, on réalise la première condition que nous avons énoncée, pour pouvoir utiliser la recherche du *B. coli* comme moyen

(1) Ces *Annales*, octobre 1929, p. 1278.

(2) L'expérience apprend que notre méthode de numération du *B. coli* sur milieu solide donne des résultats très sensiblement semblables à ceux obtenus avec l'emploi des bouillons phéniqués.



bactériologique d'appréciation de la bonne qualité d'une eau.

Toutefois, une autre question se présente qui vient un peu compliquer ce problème. Quelle espèce de *B. coli* doit-on déceler et numérer? Il y a de nombreux types de ce genre de microbe. Faut-il ne compter que ceux qui ont les propriétés physiologiques et morphologiques du *B. coli communis* type?

Je ne voudrais pas discuter longuement cette question qui a fait l'objet de nombreux mémoires, mais j'estime que pour caractériser une contamination d'origine fécale il est indispensable de s'adresser au germe qui prédomine dans l'intestin de l'homme et des animaux, et de négliger tous les autres germes qui n'ont pas les caractères de l'espèce prédominante, et en forte majorité.

Or, il résulte non seulement des nombreuses analyses de selles que nous avons faites, mais encore des analyses des auteurs tant français qu'américains ou anglais, qu'on trouve dans l'intestin une espèce de *B. coli communis*, qui représente 80 à 85 p. 100 des germes qui y sont contenus, ayant les caractéristiques suivantes :

Petit bâtonnet, peu mobile, ne prenant par le Gram, ne donnant pas de spores, non encapsulé, ne liquéfiant pas la gélatine, faisant fermenter le lactose avec dégagement de gaz, coagulant le lait, donnant la réaction de l'indol sur milieu peptoné, faisant virer au rouge le rouge de méthyle (1), ne donnant pas en milieu peptoné glucosé alcalinisé la réaction de Voges-Proskauer (2).

(1) Réaction du rouge de méthyle. Pour rechercher si l'on a affaire à un *B. coli* d'origine intestinale, cultiver ce dernier sur le milieu suivant :

Peptone . . . . .	10 grammes.
Phosphate de potasse ( $\text{PO}_4\text{HK}^2$ ) . . . . .	2 —
Glucose . . . . .	10 —
Eau, Q. S. . . . .	1.000 —
Ph. . . . .	7,5 —

Après cinq jours d'incubation à 37° prélever 5 cent. cubes de culture, y ajouter quelques gouttes de rouge de méthyle à 0,5 p. 100. Dans le cas de *B. coli communis*, la culture se colore en rouge vif. Souvent on ne fait pas cette réaction, la pratique ayant montré que, dans 92 p. 100 des cas, cette réaction concorde avec celle de l'indol.

(2) Réaction de Voges-Proskauer. Cultiver sur un milieu ayant même composition que celui indiqué à propos de la réaction du rouge de méthyle.

A 3 cent. cubes de culture ajouter 3 cent. cubes de KOH à 10 p. 100.

Plonger quelques minutes dans l'eau bouillante, ajouter 2 gouttes d'eau

Nous n'attachons pas au virage du rouge neutre au jaune canari avec fluorescence une très grande importance, tous les germes ayant les caractéristiques précédentes ne donnant pas toujours un virage très net.

On a objecté, en ce qui concerne la réaction de l'indol, son caractère précaire. Nous avons constaté, depuis longtemps, qu'après un séjour d'une certaine durée dans l'eau le *B. coli communis* perd peu à peu ce caractère. Mais ce qu'il importe de connaître, c'est l'arrivée d'une contamination fécale récente qui transporte souvent des germes pathogènes, jeunes, avec toute leur virulence.

Le séjour dans l'eau, comme on disait, fait perdre à ces derniers germes leur caractère dangereux et même leur vitalité. Nous montrerons par la suite, d'après nos nombreuses analyses, que les résultats confirment cette conclusion, que la recherche du *B. coli communis* type, et sa numération, suffit pour apprécier la qualité d'une eau potable.

Il est une autre réaction, très recommandée par les Américains, qui est la non-culture du *B. coli communis* type fécal, dans un milieu minéral additionné de citrate de sodium, dit milieu de Koser (1).

Pour notre part, nous considérons que cette absence de culture n'est pas due à une propriété physiologique nettement caractérisée, et nous estimons que l'ensemble des autres caractères est suffisamment imposant pour ne pas lui adjoindre une épreuve un peu décevante, puisqu'elle est négative et, somme toute, nullement caractéristique.

En résumé, dans la suite de notre travail, nous ne considérons comme *B. coli communis* que le germe fécal type et nous

oxygénée. Dans le cas du *B. coli communis*, on n'obtient aucune coloration.

Rappelons qu'avec *B. lactis aerogenes* il se produit une teinte rose éosine.

Souvent on ne fait pas cette réaction, la pratique ayant montré que, dans 92 p. 100 des cas, cette réaction concorde avec celle de l'indol.

(1) Milieu de Koser :

Phosphate de potasse ( $\text{PO}_4\text{HK}^3$ ) . . . . .	1 gramme.
Chlorure de sodium . . . . .	5 —
Chlorure de calcium . . . . .	0,2 —
Sulfate de magnésic. . . . .	2 —
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	1 —
Chlorhydrate d'ammoniaque . . . . .	1 —
Citrate de soude. . . . .	2 —

Ajuster Ph 7,5. Le *B. coli communis* est inapte à cultiver sur ce milieu.



éliminons le *B. lactis aerogenes*, le *B. fecaloides* qui ne donnent pas toutes les réactions que nous avons énumérées.

DEUXIÈME CONDITION. — En employant une technique convenable, la première condition étant remplie, passons maintenant à la seconde, qui va nous conduire à la justification de notre manière de caractériser et de numérer le *B. coli communis* type fécal dans une eau.

Le *B. coli* est-il retenu dans le sable ou sur la terre de la même façon que les germes pathogènes qui sont ceux qu'on doit éliminer.

Nous avons cherché en vain, dans la littérature, des expériences précises sur ce sujet.

On sait que le sable, par exemple, retient les germes de l'eau, mais le *B. d'Eberth*, plus mobile, traverse-t-il les filtres plus facilement que le *B. coli*, germe moins mobile?

Les expériences de Pottevin et Weill-Hallé, par exemple, montrent nettement que le *B. d'Eberth* passe plus facilement à travers du sable fin gorgé d'eau que le *B. coli*.

Cette conclusion, vérifiée exacte par de nombreux auteurs, est grave pour l'emploi de la recherche du *B. coli*, soit pour vérifier la bonne marche d'un filtre, soit pour s'assurer de la bonne épuration d'une eau dans le sol, car elle suppose que le *B. coli* peut avoir disparu de l'eau filtrée avant le *B. d'Eberth*, qui, mobile, traverserait rapidement le filtre.

Cependant, la conclusion que nous venons d'en tirer dépasse la portée de ces essais.

Ceux-ci ont été faits au laboratoire, dans des tubes, ce qui est loin de représenter les conditions rencontrées dans la nature ou dans la pratique de la filtration, en grand, à travers le sable.

C'est le résultat de nos études, de plus de vingt années, que nous apportons ici, pour démontrer que les germes pathogènes se comportent comme le *B. coli* dans la filtration naturelle des eaux, études faites dans des conditions autres que sur des dispositifs de laboratoire.

Les eaux de rivières, au voisinage des villes, sont suspectes et roulent des germes pathogènes. La Seine et la Marne sont dans ce cas.

Avec M. Mathieu (1), l'un de nous a isolé de la Seine des germes ayant avec le B. d'Eberth ou avec le B. paratyphique B beaucoup de parenté.

Ces germes ont une propriété : celle de donner des colonies noires quand on les cultive sur gélose au plomb (2).

Ce milieu n'a aucun pouvoir inhibiteur. Quand on fait une numération de germes sur la gélose ordinaire ou sur la gélose au plomb, on obtient des résultats identiques.

Quand on laisse des bacilles pathogènes ou du *B. coli* séjourner dans l'eau, ceux-ci deviennent plus sensibles à l'action inhibitrice de certaines substances ajoutées à un milieu de culture comme l'acide phénique, les matières colorantes.

La numération de tels germes sur gélose additionnée ou non de sous-acétate de plomb donne des résultats identiques. Ce sel de plomb n'a donc, sur ces germes, aucune action inhibitrice.

Avec MM. Guillerd et A. Leguen (3), l'un de nous a montré comment on pouvait utiliser la gélose additionnée de sous-acétate de plomb pour isoler le B. d'Eberth et le B. paratyphique B. Un mélange de *B. coli* et de B. d'Eberth dans une eau se caractérise très facilement sur la gélose au plomb : le premier donne des colonies incolores, le second des colonies noires.

(1) *C. R. Acad. Sciences*, t. 164, 1917, p. 124.

(2) La recherche des colonies noirissant sur la gélose au plomb se fait, dans une eau, de la façon suivante :

Préparation de la gélose au plomb : préparer un milieu solide formé par litre de :

Gélose . . . . .	15 grammes.
Peptone. . . . .	30 —
Eau. . . . .	Q. S. pour 1 litre.
Ph. . . . .	7 gr. 5

y ajouter, au moment de l'emploi, 10 cent. cubes d'une solution au 1/10 de sous-acétate de plomb du Codex.

Concentration des germes de l'eau : Prendre 100 cent. cubes ou 1.000 cent. cubes eau suivant l'importance de la contamination.

Si l'on prend 1.000 cent. cubes ajouter 10 grammes d'alumine gélatineuse pure. (Celle-ci est obtenue en précipitant 1 gramme de sulfate d'alumine dissous dans 1.000 cent. cubes d'eau par l'ammoniaque; dépôt du précipité, lavage de celui-ci pour éliminer  $\text{NH}_3$  et stérilisation du dépôt.) On agite bien le mélange eau et alumine. On laisse reposer deux à quatre heures. On décante le liquide, on centrifuge le dépôt qu'on ensemente sur plusieurs plaques de gélose au sous-acétate de plomb. Certains auteurs remplacent le sous-acétate de plomb par le sous-acétate de bismuth. Ces milieux s'équivalent.

(3) *C. R. Acad. Sciences*, t. 166, 1918, p. 84.



Dans toutes les eaux superficielles ou contaminées par des matières fécales, on trouve des colonies noircissant sur la gélose au plomb. Parmi elles, il peut y avoir des germes de *B. d'Eberth* ou de paratyphique. Dans une eau qui ne renferme aucune colonie noircissant sur la gélose au plomb on peut affirmer que le *B. d'Eberth* ou le paratyphique *B* ne s'y trouve certainement pas.

Nous nous sommes assurés que le mélange du *B. d'Eberth* avec les bactéries banales de l'eau ne gêne en rien la propriété que possède ce germe de noircir la gélose au plomb.

Nous avons, comparativement dans deux flacons, mélangé du *B. d'Eberth* avec de l'eau filtrée de Seine, ne renfermant aucune colonie noircissant sur la gélose au plomb dans un flacon l'eau était stérilisée, et ne l'était pas dans l'autre.

Voici les résultats obtenus :

	NOMBRE DE GERMES DE <i>B. D'ÉBERTH</i> au centimètre cube	
	Eau non stérilisée	Eau stérilisée
Au départ. . . . .	3.200	4.440
Premier jour, 1930 . . . . .	3.000	4.160
Deuxième jour, 1930 . . . . .	1.700	760
Troisième jour, 1930 . . . . .	1.430	»
Quatrième jour, 1930 . . . . .	1.100	»
Neuvième jour, 1930 . . . . .	80	0

La multiplication très abondante des bactéries banales de l'eau n'a pas gêné la recherche du *B. d'Eberth* par la méthode à la gélose au plomb. Dans ces essais, ce germe a paru plus résistant dans l'eau non stérilisée. L'absence de colonies noircissant sur la gélose au plomb montre indubitablement la non-présence de *B. d'Eberth* ou de *B. paratyphique B* dans une eau.

D'après nos nombreuses analyses la présence des colonies noircissant sur la gélose au plomb est plus rare que celle du *B. coli communis*, décelée d'après la méthode française (emploi des milieux phéniqués) dans les eaux de Seine filtrées en grand sur sable.

SUR 100 ANALYSES		
<i>B. coli</i> + colonies noires	<i>B. coli</i> sans colonies noires	Colonies noires sans <i>B. coli</i>
38	56	6

Précédemment nous avons montré que parmi ces colonies

noires on rencontrait du *B. d'Eberth* ou du para B dans l'eau de Seine brute (1). Ces résultats montrent que le *B. d'Eberth* passe moins facilement que le *B. coli*.

C'est la démonstration très évidente que nos procédés de recherche du *B. coli communis* répondent bien aux nécessités d'une surveillance efficace des eaux d'alimentation. Compliquer les méthodes en recherchant d'autres germes, du genre *B. coli*, n'ayant pas toutes les réactions physiologiques de ceux trouvés dans l'intestin, déceler comme les Américains, qui utilisent d'autres méthodes, tous les germes de *B. coli* avec les réserves que nous avons faites, et admettre une tolérance dans la présence possible de ces germes dans une eau potable, représente pour nous une méthode tout à fait arbitraire. L'absence absolue d'un germe, réputé représenter une contamination dangereuse, se comprend de tous les expérimentateurs; dire qu'on tolérera un pourcentage de ces germes, c'est admettre une graduation dans les contaminations qui ne s'appuie sur aucune base scientifique.

Nos recherches démontrent encore que les *B. d'Eberth* et *B. paratyphique* sont retenus tout au moins aussi facilement sur les filtres à sable que le *B. coli communis* d'origine fécale.

Au laboratoire, nous disposons d'un filtre à sable d'expérience ayant 1 m. 30 de longueur, filtrant l'eau horizontalement comme dans le cas des eaux circulant dans les alluvions des rivières et recevant près de 400 litres par jour d'eau de Seine non épurée. L'eau brute étant additionnée de *B. d'Eberth*, on récolte toujours à la sortie du filtre des eaux ne donnant aucune colonie noirissant sur la gélose au plomb. Quelquefois ce filtre donne encore du *B. coli communis*.

Ces expériences montrent bien que :

1° La recherche du *B. coli communis* d'origine fécale dans une eau filtrée suffit pour caractériser si celle-ci est ou non potable. Ce germe n'est pas retenu plus rapidement dans les filtres que les bacilles pathogènes comme le *B. d'Eberth* ou le *B. paratyphique B*;

(1) On trouve quelquefois des colonies noirissant sur la gélose au plomb sans présence de *B. coli* quand on numère ceux-ci sur milieux liquides, mais jamais en utilisant les milieux solides à cause, comme nous l'avons dit, de la concurrence vitale.



2° La recherche des colonies noircissant sur la gélose au plomb donne des indications aussi intéressantes que celle du *B. coli communis* d'origine fécale. Elle permet en outre de certifier dans une eau filtrée l'absence de germes dangereux comme le *B. d'Eberth*, quoique pour affirmer le caractère fécal de l'origine d'une contamination la recherche du *B. coli communis* soit indispensable. A notre avis, ces deux recherches se complètent et paraissent indispensables pour l'appréciation de la qualité d'une eau.

Quand l'analyse démontre l'absence de colonies noircissant sur la gélose au plomb, et une faible présence de *B. coli* dans une eau filtrée, nous sommes d'avis que cette eau, qui ne renferme pas de germes de genre typhique, peut être consommée sans danger.

Dans les eaux de sources ou de puits, nous avons recherché la présence simultanée des bactéries noircissant la gélose au plomb et du *B. coli* d'origine fécale. Toujours nous avons trouvé la présence de la première espèce de germes toutes les fois que le *B. coli* était présent, mais la réciproque n'est pas vraie. Il apparaît donc, de nos multiples analyses, que la présence du *B. coli* ne fait jamais défaut toutes les fois que des germes noircissant la gélose au plomb, et parmi lesquels pourraient exister des microbes de la fièvre typhoïde, sont présents.

Donc, tout ce que nous avons dit pour les eaux filtrées, nous pourrions le répéter en ce qui concerne les eaux souterraines. Nous préconisons donc la recherche simultanée du *B. coli* d'origine fécale et des colonies noircissant sur gélose au plomb dans les analyses d'eau. Mais il ne faut pas croire que toutes les colonies noircissant sur la gélose au plomb sont d'origine fécale. On trouve, parmi elles, des microbes divers dont l'origine est dans le sol. C'est parce qu'elles disparaissent facilement dans les eaux épurées comme les microbes dangereux que nous estimons l'utilité de leur recherche.

Dans une eau emmagasinée dans un réservoir, le *B. coli communis* finit par disparaître au bout de deux ou trois semaines suivant la composition organique et minérale de cette eau.

Les germes noircissant la gélose au plomb sont plus résistants au séjour dans l'eau emmagasinée. Nous avons retrouvé sensiblement le même nombre de ces germes à la fin qu'au

commencement dans nos analyses, sur des eaux maintenues à la température ordinaire pendant environ un mois.

Si toutes les colonies noires étaient du *B. d'Eberth*, il en serait autrement. Le *B. d'Eberth*, à ce point de vue, n'est pas plus résistant au séjour dans l'eau que le *B. coli communis*. De multiples expériences ont été faites sur ce sujet par nombre d'auteurs, que nous avons encore vérifiées et dont voici entre autres un résultat :

	<i>B. coli</i> par cent. cube	<i>B. d'ÉBERTH</i> par cent. cube
Au départ. . . . .	3.000	4.400
Après séjour d'un jour . . . . .	2.650	4.160
Après séjour de deux jours . . . . .	1.680	760
Après séjour de sept jours . . . . .	620	0

Dans nos essais, nous faisons toujours un mélange de *B. coli* et de *B. d'Eberth*, et nous numérons sur gélose au plomb. Les colonies blanches étaient du *B. coli*, les colonies noires du *B. d'Eberth*.

Tous ces résultats concordent. Le *B. coli* se comporte, dans la filtration, le séjour dans l'eau stagnante, la filtration à travers le sol, comme une espèce plus résistante que les microbes de la fièvre typhoïde.

Notre deuxième condition, pour admettre que l'absence du *B. coli communis* d'origine fécale est une preuve de bonne qualité d'une eau, est donc également satisfaite.

Il ne reste plus à démontrer que la troisième condition est aussi réalisée.

TROISIÈME CONDITION. — Depuis longtemps, on a comparé l'action des antiseptiques sur les différents microbes. En ce qui concerne les eaux, les substances chimiques utilisées pour les stériliser sont assez limitées. L'ozone, les hypochlorites, le chlore gazeux, l'iode, sont les substances le plus communément employées.

Or, on sait que le pouvoir antiseptique de ces substances est sensiblement le même sur le *B. coli* que sur les microbes pathogènes comme le *B. d'Eberth*, ou les *B. paratyphiques*. On a même trouvé que le *B. coli* était un peu moins sensible à leur action. Toutefois, à notre connaissance, on n'avait pas, jus-



qu'ici, comparé l'action d'un antiseptique sur un mélange de *B. coli* et de *B. d'Eberth* dans une eau.

Nous avons réalisé cet essai en prenant une eau ne contenant pas de bactéries noircissant la gélose au plomb et nous y avons ajouté du *B. coli* et du *B. d'Eberth*.

Voici un de nos résultats sur l'action du chlore libre sur ce mélange de microbes.

	NOMBRE DE GERMES par centimètre cube	
	<i>B. coli</i>	<i>B. d'Eberth</i>
Au départ . . . . .	220	500
Après cinq minutes d'action du chlore libre . . . . .	5	23
Après quinze minutes d'action du chlore libre . . . . .	7	42
Après soixante minutes d'action du chlore libre . . . . .	3,6	14
Après cent-vingt minutes d'action du chlore libre . . . . .	0,6	0,8

Ces essais ont montré qu'en mélangeant les deux germes on obtenait une disparition à peu près identique pour chacun d'eux. Contrairement à ce que pensent certains auteurs, le *B. d'Eberth* n'est pas plus sensible au chlore que le *B. coli*. Nos expériences indiquent que pour être certain de faire disparaître le *B. d'Eberth* il faut toujours mettre assez d'antiseptique pour faire disparaître la totalité des germes de *B. coli*.

Les bactéries qui noircissent la gélose au plomb, mélangées avec du *B. coli*, sont tuées aussi rapidement que ce dernier germe. Dans nos nombreuses analyses qui s'élèvent à plusieurs milliers, nous n'avons jamais trouvé de colonies noircissant la gélose au plomb, quand le *B. coli* était tué soit par addition de chlore, soit par l'action de l'ozone. Par conséquent, si ces eaux quelquefois renfermaient préalablement des germes de fièvre typhoïde noircissant la gélose au plomb, ce qui est probable, ceux-ci étaient certainement tués.

Notre troisième condition est donc aussi satisfaite et nous arrivons à cette conclusion.

CONCLUSION. — Une eau de bonne qualité est celle qui ne renferme pas de *B. coli communis* d'origine fécale. La méthode

française qui utilise l'emploi de l'acide phénique, malgré ses inconvénients, donne des résultats satisfaisants si on exige qu'une eau potable ne renferme aucun germe de *B. coli communis* d'origine fécale. Elle nous paraît préférable aux méthodes américaines et anglaises.

Notre méthode sur milieu solide donne des résultats plus certains et exige également qu'une eau potable ne renferme pas ce *B. coli*.

En outre, nous sommes arrivés à cette conclusion que, de nos nombreux essais il apparaît que si la recherche et la numération du *B. coli* peut seule donner une idée de l'importance de la contamination fécale d'une eau, la recherche complémentaire des colonies noircissant sur la gélose au plomb nous apparaît indispensable.

La non-présence de telles colonies permet seule à l'analyse de certifier que les microbes de la fièvre typhoïde sont réellement absents et que l'eau peut être consommée sans danger (1).

La méthode utilisant la gélose au plomb présente l'énorme avantage de donner des résultats à l'abri de toute interprétation individuelle et beaucoup plus certains que ceux obtenus sur milieux phéniqués puisqu'elle utilise pour différencier et numérer ces germes un milieu de culture n'ayant aucun pouvoir inhibiteur (2).

En tout cas nous conseillons, dans l'analyse bactériologique complète d'une eau, la recherche simultanée de *B. coli* et des colonies noircissant la gélose au plomb, l'une complétant l'autre.

(1) Nous ferons cependant deux exceptions. Dans les eaux souterraines et artésiennes, riches en hydrogène sulfuré, nous avons constaté la présence de colonies noircissant sur la gélose au plomb en l'absence de toute colonie de *B. coli*, entérocoque, perfringens, etc. Or, ces eaux étaient à l'abri de toute contamination.

Dans les eaux superficielles non filtrées on rencontre des bacilles sporulés noircissant la gélose au plomb et résistant aux doses d'antiseptiques habituellement employées. Leur présence n'atteste donc pas que l'eau est suspecte.

(2) Le comptage des colonies noircissant sur gélose au plomb demande cependant un petit apprentissage. De très petites colonies s'y développent qui apparaissent sous forme de petits points noirs. Transplantées en piqûres sur gélose au plomb elles ne noircissent pas ce milieu.



## LÈPRE ET VIRUS FILTRABLE

par J. MARKIANOS.

*(Travail du Laboratoire de M. le Prof. Marchoux.)*

Il y a trente-cinq ans, Straus signalait, parmi les bacilles tuberculeux, la présence de petits corpuscules que Much, en 1908, décrivait sous le nom de granulations gramophiles protoplasmiques, ayant les caractères des lipoides.

Deux ans plus tard, en 1910, un savant brésilien, Fontès, eut l'idée de séparer ces granulations par filtration des produits tuberculeux à travers une bougie Berkefeld. Fontès n'a pas pu réaliser cette séparation et il n'a pas réussi à retrouver dans le filtrat les granulations de Much. Il n'a pas davantage pu les voir dans le culot de centrifugation. Le liquide obtenu par la filtration de produits tuberculeux se montrait stérile, tout au moins en apparence. Mais ce même liquide, inoculé à des cobayes, provoqua chez ces animaux, quelques mois plus tard, un engorgement des ganglions voisins du point d'inoculation. Dans les frottis de ces ganglions, on pouvait découvrir l'existence de quelques bacilles acido-résistants caractéristiques. Fontès a conclu de cette expérience que le filtrat de produits tuberculeux renfermait un virus capable de traverser la bougie poreuse et de produire une tuberculose atypique.

Les expériences de Fontès ont soulevé un certain intérêt et quelques expérimentateurs, surtout Philibert, ont cherché à les vérifier. Les résultats obtenus ne furent pas favorables et on crut à une erreur d'expérience, ce qui sembla avoir impressionné Fontès lui-même et l'avoir écarté de nouvelles recherches dans cette voie (1).

Dix ans plus tard (1923), Vaudremer signale des formes aty-

(1) D'après un renseignement verbal de M. Marchoux, Tselsu a, en 1922, obtenu des colonies de bacilles tuberculeux par ensemencement en milieu de Petrof, après filtration sur bougie Chamberland d'un liquide obtenu par lavage à l'eau physiologique stérile de pus d'abcès froid. Ce travail n'a pas été publié.

piques du bacille tuberculeux, non acido-résistantes, avec éléments filtrables à travers la bougie Chamberland. Il prétendit même avoir obtenu la culture en série formée de très fins filaments, mais dépourvue de pouvoir infectant pour le cobaye. Il obtint, néanmoins, chez cet animal, une polyadénite tardive, généralisée, en inoculant ces produits par voie intraveineuse. Vers la même époque paraissaient les travaux beaucoup plus importants de Calmette et de ses élèves, Valtis, Nègre, Boquet, etc., sur la filtration des cultures et des produits contenant des bacilles de Koch. « L'ultra-virus tuberculeux » de Calmette a donné lieu, depuis, à de nombreux travaux extrêmement intéressants en ce qui concerne la tuberculose, mais sur lesquels nous n'avons pas à insister dans ce mémoire.

\*  
\* \*

Nous nous occuperons seulement ici de démontrer *qu'il existe, dans les produits lépreux, un produit filtrable (ultra-virus lépreux) que l'étude expérimentale et comparée de la lèpre des rats permet de mettre en évidence.*

Cette maladie des rats, bien étudiée depuis quelques années par Marchoux, rappelle parfaitement, à tous points de vue, la maladie de Hansen. Il y a donc lieu de penser que l'on peut être autorisé à rapporter à la lèpre humaine les résultats expérimentaux acquis par l'étude de la lèpre des rats.

On sait que cette *lèpre des rats* est une maladie causée par un bacille acido-résistant (B. de Stephansky) tout à fait comparable à celui de Hansen, non cultivable et non inoculable en dehors des animaux de l'espèce murine. La propriété des bacilles acido-résistants de se résoudre en granules laissait supposer l'existence d'un virus filtrable pour celui-ci comme pour le bacille tuberculeux.

Pour nous en assurer, nous avons expérimenté sur deux séries d'animaux. Les résultats de nos recherches ont été communiqués à la Société de Pathologie Exotique. Nous les résumons ici.

Nous prélevons de préférence des ganglions caséifiés de rats infectés de lèpre. Ce caséum est extrêmement riche en bacilles acido-résistants et en granulations acidophiles. Il est addi-



tionné de 50 à 100 cent. cubes d'eau physiologique; le mélange est filtré sur papier et le liquide obtenu, additionné d'une culture de virus Danysz, est filtré sur bougie Chamberland L<sup>2</sup> dûment vérifiée préalablement.

La filtration est faite dans le vide sous une pression de 23 à 30 centimètres de mercure; elle ne se prolonge pas au delà de cinq minutes. Du filtrat obtenu, nous avons examiné, colorés par le Ziehl, des frottis faits avec le culot de centrifugation. Tous étaient négatifs; néanmoins, pour nous assurer encore plus du bon état de la bougie, nous ensemençons en bouillon et en gélose une partie du liquide. Nous n'avons jamais observé la moindre apparence de culture.

Avec la filtration ainsi obtenue, nous inoculons nos rats dans l'aîne droite et leur donnons à chacun de 1 à 3 cent. cubes de liquide. A partir du second mois, on constate la présence d'une tuméfaction des ganglions siégeant à la région inoculée.

La ponction de ces ganglions et l'examen des frottis préparés avec la pulpe ainsi extraite décèlent la présence de bacilles acido-résistants colorés en rouge par la méthode de Ziehl. Ces bacilles sont rares, isolés, dispersés et il faut chercher quelquefois longtemps pour en trouver. Beaucoup d'entre eux sont granuleux. Au fur et à mesure que le temps passe, le nombre en devient plus considérable. Cette multiplication locale des bacilles aboutit vers le sixième mois à la formation d'un petit tubercule lépreux. Dès lors, la généralisation de la maladie se fait comme après infection par le virus normal.

L'ultravirus lépreux est donc apte à reproduire la maladie comme le bacille lui-même.

#### LES JEUNES RATS SONT PLUS SENSIBLES QUE LES ADULTES A L'ULTRA-VIRUS.

Si, pour les animaux adultes, il nous faut deux mois pour déceler les premiers bacilles acido-résistants dans les frottis ganglionnaires, le temps exigé pour arriver au même résultat est beaucoup plus court chez les tout jeunes rats.

Dans une de nos expériences, nous avons inoculé 4 jeunes rats de deux jours avec le filtrat de produits lépreux. Neuf jours plus tard, la ponction aseptique de la région inoculée n'a pas

ramené d'éléments bacillaires ; mais au bout de vingt jours nous avons retiré des bacilles acido-résistants en utilisant le même procédé. A partir de cette date, la multiplication des bacilles se poursuit comme pour les adultes.

Cette expérience montre que le développement des bacilles est rapide chez les jeunes rats, et que l'ultra-virus se concentre dans le système ganglionnaire comme les formes bacillaires.

Cette affinité ganglionnaire, quel que soit le point d'inoculation, a été signalée depuis longtemps par Marchoux, aussi bien en ce qui concerne le bacille de Hansen dans la lèpre humaine que le bacille de Stéphanisky dans la lèpre des rats. Le virus filtrable se comporte comme le bacille.

La sensibilité des jeunes sujets à l'ultra-virus est particulièrement intéressante si on l'envisage au point de vue prophylactique.

#### L'ÉVOLUTION DE L'ULTRA-VIRUS LÉPREUX DANS L'ORGANISME DES RATS.

Le développement de l'ultra-virus lépreux se fait tardivement : à partir du vingtième jour pour les tout jeunes animaux, et après le second mois pour les rats adultes. Les premières formes du virus que nous ayons pu mettre en évidence consistent en de très fines granulations colorées en rouge par la méthode de Ziehl, isolées et dispersées sur les frottis. Au fur et à mesure que le temps passe, ces granulations deviennent plus nombreuses et, par places, sont disposées par deux ou trois à la file, prenant ainsi l'aspect d'un bacille granuleux. C'est alors qu'on commence à observer les premières formes bacillaires vraies. Il y a, par conséquent, une évolution dans le développement du virus filtrable, et la forme granuleuse peut être considérée comme prébacillaire.

Cette observation confirme l'opinion défendue par notre Maître, et maintenant admise, que la transformation granulaire des bacilles ne dénote ni dégénérescence, ni mort. Nous ne contestons pas que ce stade, qui se manifeste à l'origine des bacilles, se montre aussi à la fin de sa vie propre et puisse subsister jusqu'à la mort. Mais tant qu'elles existent, ces granulations paraissent susceptibles de régénérer les bacilles et nous



venons de voir que, quand elles ont disparu, il persiste encore des éléments aptes à les reproduire et à se transformer en bacilles.

### CONCLUSIONS.

L'étude comparative de la lèpre des rats nous amène à admettre pour la lèpre humaine :

1° Que dans la maladie de Hansen, il existe un virus capable de traverser la bougie de Chamberland ;

2° Que ce virus filtrable est capable de reproduire la maladie ;

3° Que les jeunes sujets se montrent plus sensibles à cet ultra-virus lépreux que les adultes ;

4° Que le stade granulaire fait partie de l'évolution de l'ultra-virus vers le stade bacillaire et du stade bacillaire vers l'ultra-virus.

### BIBLIOGRAPHIE

CALMETTE (A.), Les éléments filtrables des bacilles de Koch. *Bull. Inst. Pasteur*, 31 octobre 1928.

MARCHOUX (E.), La lèpre de l'homme et la lèpre du rat. *Ces Annales*, avril 1923.

MARCHOUX (E.), La lèpre du rat et sa transmission probable de l'homme. III<sup>e</sup> Conférence internationale de la lèpre. Strasbourg, juillet 1923.

MARCHOUX (E.) et SOREL. La lèpre des rats. *Ces Annales*, août 1924.

MARKIANOS (J.), Filtration du virus de la lèpre des rats. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 12 juin 1929.

MARKIANOS (J.), Le développement du virus filtrant avant sa transformation en bacille de la lèpre des rats. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 10 juillet 1929.

MARKIANOS (J.), Développement rapide du virus filtrant de la lèpre des rats après inoculation aux jeunes rats. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 13 novembre 1929.

MARKIANOS (J.), L'ultra-virus lépreux. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 11 décembre 1929.

VALTIS (J.), Sur la filtration du bacille tuberculeux à travers les bougies Chamberland L<sup>2</sup>. *C. R. Soc. Biol.*, 12 janvier 1924, p. 19.

VALTIS (J.), Sur la filtration à travers la bougie Chamberland L<sup>2</sup> du bacille de Koch provenant d'un pus tuberculeux. *C. R. Soc. Biol.*, 19 janvier 1924, p. 74.

VAUDREMER, Formes filtrantes des bacilles tuberculeux. *C. R. Soc. Biol.*, 9 juin 1923, p. 80.

## TRANSMISSION AU *CERCOCEBUS* DE LA NÉPHRITE SUBAIGUË DE L'HOMME

par JEAN TROISIER.

L'étiologie des néphrites secondaires de l'homme est à l'heure actuelle fort bien connue. L'élimination des bactéries par le rein peut provoquer des lésions du parenchyme rénal, se traduisant en clinique par le syndrome des néphrites aiguës. Plus récemment, l'étude des spirochétoses a permis d'établir l'extrême fréquence d'une néphrite grave dans la spirochétose ictéro-hémorragique.

Mais, à côté de ces faits bien classés, combien sont nombreuses les néphrites d'allure primitive de l'homme dont l'étiologie reste extrêmement obscure. Comme le dit à ce propos le professeur Baron de Koranyi, on a le devoir d'insister sur « les grosses lacunes de nos connaissances étiologiques actuelles ».

On conçoit que, dans ces conditions, les études cliniques sur les néphrites aient surtout porté sur leur physiologie pathologique, grâce à des techniques physiques et chimiques bien au point. Les recherches de ces vingt dernières années ont pu ainsi faire faire à la clinique des progrès incontestables.

Tout n'est pas dit, par contre, sur ces néphrites primitives, cryptogénétiques pourrait-on dire, si l'on se place sur le terrain étiologique, sur le terrain des causes pathogènes. Quand on suit l'évolution inexorable de certaines d'entre elles, on a l'impression clinique que seul un virus peut être responsable des manifestations morbides. Cette idée d'un *virus néphrotrope* vient irrésistiblement à l'esprit devant le tableau clinique d'une néphrite subaiguë, à début brusque et à paliers successifs de gravité croissante jusqu'à la mort. On a même, dirais-je, l'impression d'une maladie virulente autonome dont l'expression rénale est la note majeure dans le complexe morbide.

Nous nous sommes demandé si la méthode expérimentale ne permettait pas d'appuyer, d'étayer et même de démontrer cette conception, jusque-là purement hypothétique.



Mais, tout d'abord, nous avons pensé qu'il y avait lieu de partir d'un cas clinique bien étudié, survenant sur un sujet sans tare morbide antérieure, en pleine force de l'âge, sans infection concomitante, aiguë ou chronique, et dont les *poussées évolutives rénales* seraient suffisamment aiguës pour permettre au virus de rester décelable *in situ* dans le parenchyme rénal.

Un cas que nous venons d'observer pendant trois mois à l'hôpital Bichat satisfaisait à ces desiderata. Il s'agissait d'un homme de quarante ans qui présentait depuis un an tous les symptômes d'une néphrite grave. L'albuminurie oscillait entre 1 et 2 grammes, la dyspnée était habituelle, les œdèmes bouffissaient le visage et les membres inférieurs malgré une chlorémie normale; la tension artérielle était notablement élevée avec un bruit de galop persistant et une neuro-rétinite exsudative finale; l'azotémie était constante, oscillant entre 1 gr. 10 et 3 grammes d'urée avec une anémie notable et du prurit; l'examen des urines décelait des cylindres granuleux, sans aucune bactérie, sans aucun spirochète (1). L'examen à la phénol-sulfonephtaléine donnait une élimination réduite à 10 p. 100. Le diagnostic clinique de néphrite subaiguë s'imposait; il ne pouvait pas s'agir de néphrose, car le taux des lipides du sérum était au-dessous de la normale (0 gr. 99 au maximum de cholestérolémie).

La nécropsie devait à son tour confirmer le diagnostic en montrant un type de néphrite tubéreuse bien caractérisé. Reins de volume et de poids à peu près normaux (140 grammes chaque), mais très granuleux après la décortication, avec une capsule un peu épaissie, un parenchyme de teinte panachée avec une atrophie apparente de la corticalité. Un cœur de Traube typique (780 grammes) avec une hypertrophie localisée du ventricule gauche venait compléter le tableau anatomique de la néphrite subaiguë classique. Tous les autres viscères étaient sains.

Sans même attendre l'examen histologique, nous crûmes devoir aussitôt essayer la transmission expérimentale de la maladie. Un des deux reins avait été prélevé aseptiquement.

(1) Huit inoculations d'urine au cobaye restèrent sans résultat.

Son tiers supérieur (50 grammes environ) fut broyé avec du sable de Fontainebleau stérile, émulsionné dans deux volumes environ d'eau salée physiologique.

### Symptomatologie de la néphrite humaine.

Albuminurie . . . . .	1 à 2 grammes par litre.
Cylindrurie . . . . .	Cylindres granuleux et leucocytaires.
Anasarque . . . . .	Aldrich-Mac Clure : 9 minutes.
Hypertension artérielle . . . . .	$\frac{18}{26}$ ; $\frac{12}{18}$ ; $\frac{15}{23}$ ; $\frac{13}{19}$ ; $\frac{15}{19}$ .
Bruit de galop, dyspnée, prurit, neuro-rétinite exsudative.	
Phénolsulfonephthaléine . . . . .	10 p. 100.

### Sang de la néphrite humaine.

Urée (1) . . . . .	{ 2 — 2,55 — 1,97 — 1,29 — 1,33.
	{ 1,42 — 3,05 — 1,55 — 1,10 — 2,30.
Cholestérol (2) . . . . .	0,83 — 0,99.
Chlore globulaire . . . . .	3,33.
Chlore plasmatique . . . . .	3,62 — 3,40.
Globules rouges . . . . .	2.700.000 — 2.580.000 — 2.420.000.

### Anatomie pathologique de la néphrite humaine.

*Reins* : Néphrite tubéreuse avec lésions épithéliales (nécrose des tubuli, cylindres granuleux et leucocytaires) et interstitielle (infiltrats lymphocytaires). Reins de 140 grammes chaque.

*Cœur* : Hypertrophie du ventricule gauche (cœur de Traube 780 grammes).

Après décantation, l'émulsion rénale fut injectée presque en totalité dans la cavité péritonéale d'un mangabey (*Cercocebus fuliginosus*). Par une injection intrapéritonéale, nous pensions ne pas affaiblir la virulence de l'émulsion et provoquer plus facilement, par cette injection pararénale, une maladie néphrotrope. L'injection fut admirablement tolérée; le jour même, le lendemain, et le surlendemain, l'animal ne présentait aucun symptôme morbide.

Pendant ce temps, l'examen histologique des reins de notre malade venait confirmer le diagnostic de néphrite subaiguë (fig. 1). Les lésions étaient diffuses dans toute la corticalité et variables suivant les endroits. Tantôt, on notait des infiltrations lymphocytaires diffuses entre les tubuli; tantôt, on constatait de brutales lésions nécrotiques des tubuli (difficiles à

(1) Méthode à l'hypobromite. Série de dosages successifs : grammes d'urée par litre de sérum.

(2) Méthode de Grigaut.

interpréter du fait du délai de vingt-quatre heures entre la mort et l'autopsie), tantôt des plages entières de tubes excréteurs, chargés de cylindres leucocytaires, granuleux ou granulo-graisseux, tantôt, enfin, quelques bandes de tissu connectif dense, des altérations vasculaires et quelques glomérules hyalins.

Le diagnostic clinique, anatomique et histologique, n'était

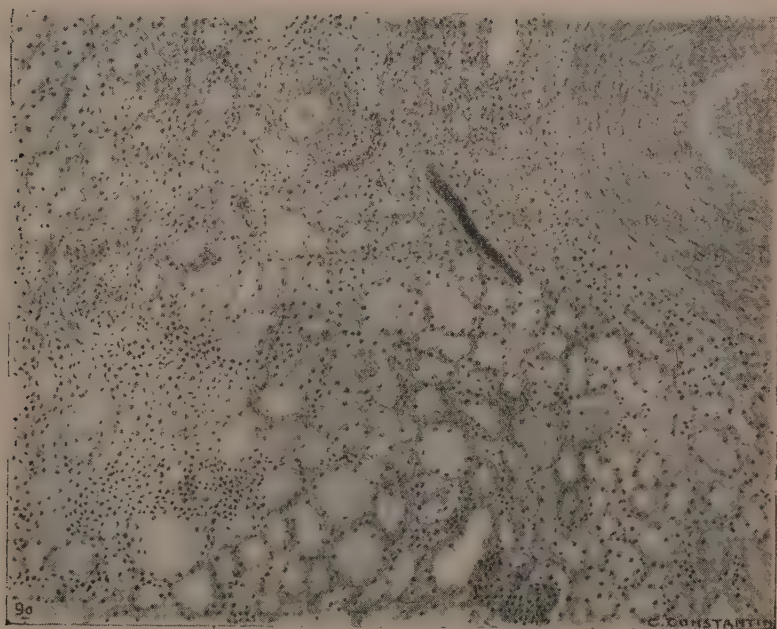


FIG. 1. — Néphrite subaiguë de l'homme. Infiltrations leucocytaires. Cylindres. Grossissement 90/1.

donc pas douteux. Restait à savoir si la méthode expérimentale mettrait en évidence un virus néphrotrope.

Le singe inoculé ne tarda pas à devenir malade, au lieu de gambader joyeusement dans sa cage, il restait morne et immobile; ses urines, jusque-là normales, ne tardèrent pas à présenter à partir du sixième jour, des traces d'albumine et des cylindres granuleux. L'animal n'avait pas d'œdèmes, mais à plusieurs reprises on put constater des trémulations musculaires généralisées, sans élévation de la température centrale. L'inappétence était telle qu'il refusa bientôt toute alimentation; huit jours après l'inoculation, le singe moribond, hypother-



mique (35°), est sacrifié et la nécropsie est pratiquée aussitôt (19 juin 1930).

La cavité péritonéale ne présente aucune lésion infectieuse apparente. Les anses intestinales, le péritoine pariétal sont libres de toute adhérence inflammatoire, et à plus forte raison, ne trouve-t-on nulle part de trace de pus. Le mésentère est un peu injecté.

**Néphrite expérimentale du *Cercocebus*.**

Sérum sanguin.	{ Cholestérol . . . . .	0 gr. 75.
	{ Urée . . . . .	4 gr. 20.
	{ Albumine . . . . .	74 gr. 20.
Urines. . . . .	{ Albumine . . . . .	0 gr. 30.
	{ Cylindres . . . . .	Granuleux et leucocytaires.

Les reins présentent un aspect congestif sans hémorragies ni œdème. Les urines prélevées dans la vessie contiennent

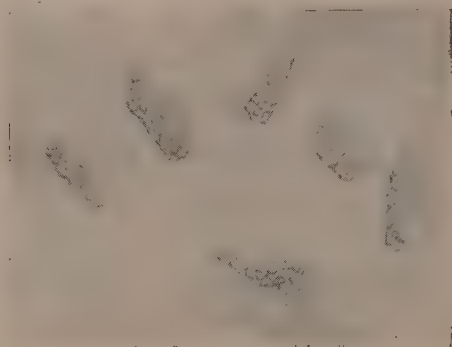


FIG. 2. — Urines du *Cercocebus*. Cylindres granuleux. Grossissement 700/1.

de l'albumine (0 gr. 30 par litre), et des cylindres granuleux, granulo-graisseux et leucocytaires en abondance (fig. 2).

Le reste de l'autopsie ne montre aucune lésion appréciable, en particulier, pas de colite ni de broncho-pneumonie.

Le sang artériel prélevé par section artérielle à l'agonie donne à l'examen chimique une azotémie considérable de 1 gr. 20 par la méthode à l'hypobromite (en urée). La cholestérolémie, par contre, est basse (0 gr. 75 de cholestérol par litre de sérum). Sa teneur en albumine, dosée par la réfractométrie, s'élève à 74 gr. 20.

L'examen histologique des organes du mangabey permettait

d'affirmer, sans réserve, l'existence d'une néphrite aiguë bilatérale sans lésions chroniques préalables (fig. 3 et 4). A l'intérieur des tubes excréteurs, dans de nombreuses zones du rein, on pouvait déceler sans peine de nombreux cylindres, les uns purement leucocytaires, les autres granuleux, granulo-grais-

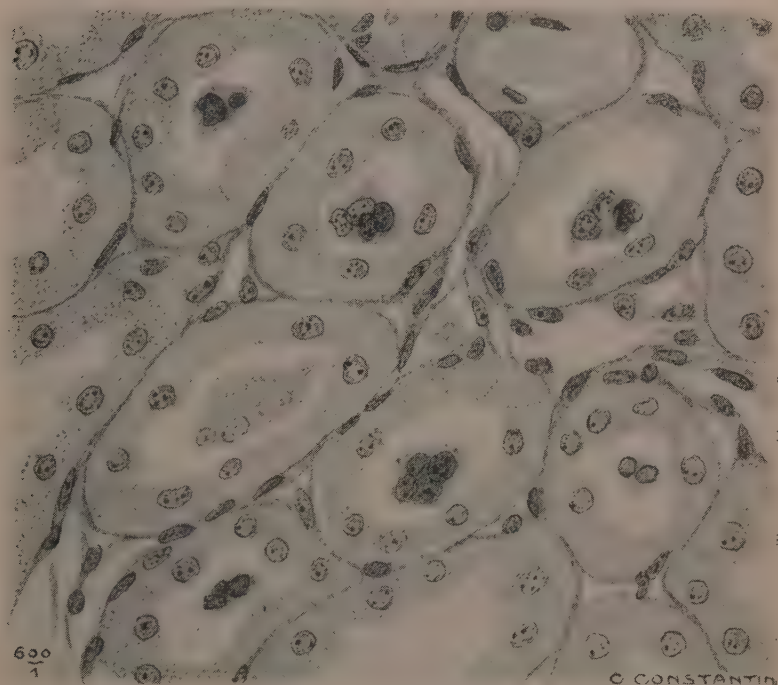


FIG. 3. — Rein du *Cercocebus*. Zone excrétrice : Cylindres granuleux, cylindres cellulaires. Grossissement 600/1.

seux avec des fragments d'hématies ou de protoplasma acido-ophile. Ces témoignages éclatants de l'atteinte du parenchyme rénal étaient corroborés par l'existence — si souvent difficile à interpréter quand elles existent seules — de zones étendues de lésions des tubuli, caractérisées par la disparition de la bordure en brosse, la fragmentation de la zone intérieure des cellules, l'apparition d'une poussière granuleuse dans la lumière et la disparition même de quelques noyaux. Pas ou peu de lésions glomérulaires ou vasculaires, aucune lésion de sclérose.

Les autres organes (foie, rate, poumon, cœur, surrénales) ne présentent pas d'altérations dignes d'être relevées.

Somme toute, par la méthode expérimentale, il nous avait été donné de reproduire chez le *Cercopithecus fuliginosus* une

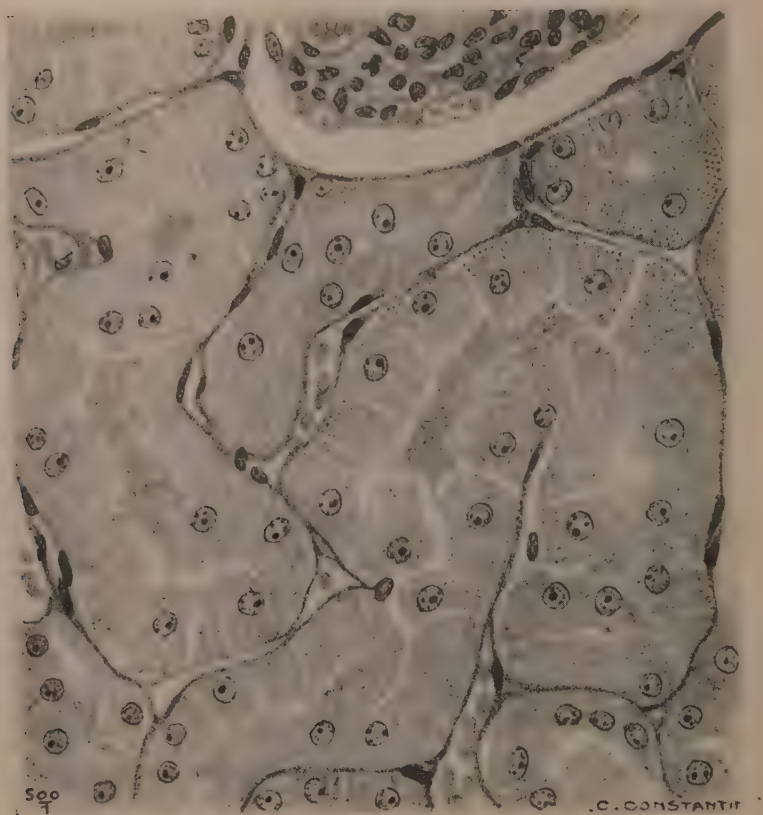


FIG. 4. — Rein du *Cercopithecus*. Zone excrétrice. Altérations limitées au pôle interne des cellules avec fonte granuleuse dans la lumière des tubuli cortici. Grossissement 500/1.

néphrite aiguë azotémique mortelle en partant du rein de notre malade néphrétique.

Il était indiqué, dès lors, de rechercher dans les humeurs de notre mangabey si l'on pourrait déceler un virus par les méthodes bactériologiques. L'examen direct des urines, du suc rénal et du sang ne permit de déceler ni microbes, ni spiro-



chètes, même à l'ultra-microscope. L'ensemencement de fragments de rein, de sang et d'urines en hauts tubes de bouillon Martin ne permit de reconnaître au bout de sept jours que des organites coccoïdes extrêmement fins, visibles seulement à l'ultra-microscope, et dont la nature ne nous a pas paru évidente.

Un deuxième *Cercocebus fuliginosus* fut inoculé dans le péritoine avec une émulsion du parenchyme rénal de notre premier singe. Son azotémie était de 0 gr. 37 et sa cholestérolémie à 0 gr. 96. Dans le même délai que le premier singe, vers le quatrième jour, l'animal tomba malade, et présenta de nombreux soubresauts musculaires ; ses urines continrent des traces d'albumine à plusieurs examens. Il se remit progressivement au bout d'une dizaine de jours et finit par guérir apparemment ; un mois après, son azotémie était à 0 gr. 18, quatre mois après à 0 gr. 24. Nous ne pûmes ainsi obtenir, contrairement à notre attente, une souche fixe de virus néphrotrope.

Telles sont les recherches qui nous permettent de penser que nous avons réussi le passage de la néphrite subaiguë cryptogénétique de l'homme à un singe inférieur, le *Cercocebus fuliginosus*.

On pourrait se demander, il est vrai, si le *Cercocebus* n'a pas succombé à une néphrite aiguë spontanée, sans rapport avec l'inoculation. Mais notre singe n'avait présenté avant l'expérience ni cylindres, ni albuminurie (1). Il faut se demander également quel est le chiffre normal de l'urée dans le sang de cette espèce animale. Nos dosages sont encore trop peu nombreux pour que nous puissions le donner avec certitude ; il doit se trouver, si nous en croyons nos premiers dosages, entre 0 gr. 45 et 0 gr. 35 par litre de sérum. A l'état pathologique, il s'élève certainement plus haut : ainsi, chez un *Cercocebus collaris* en plein shock, avec une fracture comminutive de l'avant-bras, quelques heures avant la mort, l'azotémie s'élevait à 0 gr. 60 sans que nous ayons trouvé d'albuminurie ni de cylindres à l'examen des urines et du parenchyme rénal.

(1) Nous avons remarqué, sur des témoins mâles, la fréquence relative de faux cylindres et de traces d'albumine dans l'urine vésicale coïncidant avec de nombreux spermatozoïdes. On aura toujours présente à l'esprit cette cause d'erreur liée au passage dans la vessie du liquide spermatique.

Chez un callitriche, paraissant un peu malade, nous avons trouvé une azotémie de 0 gr. 64; quinze jours après l'azotémie descendait à 0 gr. 32. Chez trois *Maccacus cynomolgus* sains, le taux de l'urée sanguine s'élevait respectivement à 0 gr. 15, 0 gr. 18 et 0 gr. 33; chez un *Cercopithecus patas* à 0 gr. 17. L'azotémie de notre mangabey mort de néphrite aiguë, azotémie de 1 gr. 20, est donc une azotémie élevée, correspondant environ au quadruple ou au quintuple du taux normal de l'urée dans le sang. Cette azotémie rappelle l'azotémie des néphrites humaines, classiques depuis les travaux de F. Widal.

Une autre cause d'erreur, bien théorique celle-là, pourrait être liée à la possibilité de lésions rénales cytologiques simples, sans virus, provoquées par l'injection parentérale de tissu rénal humain hétérologue. Ce que les expériences autrement brutales de Castaigne et Rathery sur les lapins nous ont appris n'est pas en faveur de cette hypothèse; jamais on ne trouve dans la cytolysé rénale simple des cylindres granulo-graisseux et leucocytaires en pareille abondance après une seule injection intrapéritonéale de liquide rénal dilué. D'ailleurs, nous avons pu, plusieurs fois, faire la preuve directe de l'innocuité de l'inoculation intrapéritonéale du rein humain normal au singe inférieur. Ainsi, un babouin a reçu en injection intrapéritonéale le sixième environ d'un rein humain provenant d'une autopsie de cirrhose du foie. Il ne présenta aucun trouble consécutif, et son azotémie, de 0,35 p. 1.000 avant l'expérience, était à 0 gr. 20 six semaines après. Jamais nous ne pûmes déceler chez lui de cylindres ni d'albuminurie. Mêmes résultats chez un callitriche qui reçoit en vain le cinquième d'un rein humain sans provoquer de signes de néphrite.

L'inoculation du rein humain sain ne donne donc pas, par elle-même, une néphrite au *Cercocebus fuliginosus*. La néphrite de notre singe doit donc être considérée comme consécutive à l'inoculation de la néphrite subaiguë de l'homme.

#### CONCLUSIONS.

Parmi les néphrites humaines, il existe une maladie virulente, caractérisée cliniquement par un syndrome de néphrite subaiguë (albuminurie, cylindrurie, œdèmes, dyspnée, hyper-

tension artérielle, bruit de galop, neuro-rétinite, azotémie et anémie, sans hypercholestérolémie) et caractérisée anatomiquement par l'aspect de la néphrite tubéreuse avec lésions histologiques diffuses, subaiguës, épithéliales (altérations des tubuli, cylindres granuleux et leucocytaires) et interstitielles (infiltrats lymphocytaires).

Cette maladie de l'homme peut se transmettre au singe (*Cercocebus fuliginosus*) en inoculant dans le péritoine de cet animal une émulsion du parenchyme rénal. On provoque, de la sorte, la mort du singe en un septenaire avec des symptômes de néphrite aiguë (azotémie élevée, albuminurie, cylindrurie) et des lésions rénales diffuses (altérations des tubuli, cylindres granuleux et leucocytaires dans le parenchyme rénal).



## KYSTES A DÉMODEx, KYSTES SÉBACÉS ET ABCÈS DU MOUTON

par M. AYNAUD.

En 1925 (1), j'ai fait connaître l'existence, chez le Mouton, de kystes à *Démodex* : ces kystes, pouvant atteindre un diamètre de 5 à 8 millimètres, étaient littéralement bourrés de parasites. Depuis cette date, j'ai eu l'occasion de rencontrer un grand nombre de cas semblables : j'ai également observé des kystes qui, bien qu'ayant la même apparence, et souvent observés sur le même sujet, étaient, en réalité, des kystes sébacés. J'ai enfin noté le passage à la suppuration de certains kystes. Je me propose dans ce travail d'exposer l'ensemble de mes constatations, d'envisager les rapports entre les deux variétés de kystes, et leur rôle dans la pathogénie de certains abcès du Mouton.

C'est en 1842 que Simon, de Berlin, découvrit le *Démodex* dans les pustules d'acné de l'Homme : on sait, par les recherches consécutives, que ce parasite est très fréquent, sinon constant, dans les comédons de l'aile du nez : il semble bien d'ailleurs s'y comporter plutôt comme un commensal que comme un parasite. Simon a également observé l'existence du même parasite dans les glandes de Meibomius du Mouton, et pareille constatation a été refaite dix ans plus tard par Oschatz. Ce sont là les seuls renseignements que l'on trouve sur la présence du *Démodex* chez le Mouton, alors que de très nombreux travaux ont été consacrés à son rôle pathogène chez d'autres espèces animales.

Chez le Chien, ce parasite détermine une infection grave avec prurit, dépilation, réaction cutanée : c'est une véritable gale, la gale démodécique ou folliculaire, bien différente de l'affection que j'ai fait connaître chez le Mouton, et qui se réduit

(1) Kystes à *Démodex* et abcès du Mouton. *C. R. Académie des Sciences*, 181, 6 juillet 1925, p. 62.

à la seule présence de kystes parasitaires. Il n'en est pas tout à fait de même chez la Chèvre : la démodécie est fréquente chez cette espèce, et bien connue depuis les premières constatations de Niederhœusern (1881), et de Railliet et Nocard (1885) [1]. Depuis cette époque, nombre de travaux lui ont été consacrés, et la maladie a été signalée à peu près partout. Elle évolue en produisant des pustules, et, cliniquement, se rapproche de la gale démodécique du Chien, mais son évolution est extrêmement atténuée ; les lésions, moins profondes, ne s'étendent que très lentement sans entraîner la mort, et paraissent même susceptibles, sinon d'une régression complète, du moins d'arrêt : enfin, le prurit et la dépilation manquent, ou sont à peine ébauchés.

Chez le Bœuf, Railliet signale la constatation, faite en Allemagne et aux États-Unis, de nodules sous-cutanés remplis de *Démox*, de la grosseur d'un pois, disséminés sur tout le corps, et qui semblent absolument identiques à ceux que j'ai fait connaître chez le Mouton.

Enfin, pour être complet, il faut signaler que des productions kystiques, analogues à celles du Mouton et du Bœuf, ont été signalées, d'après Mégnin (2), chez les Oiseaux : des follicules plumeux, extrêmement dilatés, et formant de véritables tumeurs, ont été observés chez quelques espèces : ils étaient bourrés de centaines d'Acariens, d'*Harpirhynchus nidulans*.

Depuis la publication de ma première note, nombre de travaux ont été consacrés au même sujet, tant en France qu'à l'étranger : on en trouvera l'exposé complet dans la thèse de doctorat vétérinaire d'Amiel (Alfort, 1928) : *Démoxie et Hypodermose des petits Ruminants. Altérations des cuirs*.

L'auteur y expose ses observations et celles d'auteurs américains : en effet, la fréquence et l'importance des dégâts causés aux cuirs par cette affection aux États-Unis sont telles que le Bureau de l'industrie animale a institué une commission composée de R. W. Frey, Hall et Schillinger pour étudier la question.

Ces auteurs, ainsi qu'Amiel, ont été placés dans des condi-

(1) RAILLIET : *Traité de Zoologie médicale et agricole*, 1895, p. 638.

(2) P. MÉGNIN : *Les Parasites articulés*, Paris, 1895, p. 419.

tions d'observation différentes des miennes, ils ont pu ainsi compléter les lacunes de mon travail. Mes travaux ont été effectués d'après des constatations sur des animaux vivants, constatations complétées par des prélèvements ou des biopsies : dans ces conditions, j'en'avais pu observer les kystes à *Démodex* que sur les régions glabres (museau et cou). Sur les régions couvertes de laine, il est absolument impossible, sur le vivant, par le palper, de constater l'existence des petites tumeurs causées par le *Démodex* : depuis des années, je cherche à saisir sur le vif les premiers stades des volumineux abcès de la suppuration caséuse ; malgré des centaines de recherches effectuées, je n'ai pu y parvenir. Les observations de Frey et de ses collaborateurs, aussi bien que celles d'Amiel, ont été faites sur des cuirs frais ou préparés, les lésions de la démodécie dans les régions couvertes de laine n'étant visibles que du côté interne de la peau : en effet, il n'existe aucune modification de la laine à ce niveau, et cliniquement aucun symptôme ne permet de soupçonner la lésion. Sur les cuirs frais, immédiatement après l'abatage, on constate de petites tumeurs en saillie de quelques millimètres de diamètre. Sur les cuirs préparés, suivant l'intensité et l'âge des lésions, les aspects sont différents. Tantôt, il s'agit de pertes de substance de 2 à 3 millimètres de diamètre, et c'est là, au point de vue économique, la forme la plus grave ; tantôt, la lésion ne va pas jusqu'à la perforation complète, et s'arrête au stade cupule. Dans d'autres cas, on se trouve en présence de saillies, de boutons. Enfin, la coloration des cuirs au niveau des lésions peut être plus ou moins modifiée.

L'importance économique de pareilles altérations des cuirs est considérable. En effet, on peut les constater sur toutes les régions couvertes de laine ; elles sont, en général, disséminées, et l'on observe sur le même sujet un grand nombre de kystes. D'autre part, l'enquête faite par Amiel a mis en évidence la diffusion absolument mondiale de l'affection qui, en dehors de la France et des États-Unis, a été observée en Espagne, en Turquie, en Arabie, aux Indes, dans l'Afrique du Nord, dans la République Argentine.

Les kystes à *Démodex* sont rencontrés très fréquemment chez le Mouton, à condition de les rechercher avec soin : leur



présence, en effet, n'entraîne aucun trouble fonctionnel, les animaux ne cherchent pas à se gratter : il n'existe aucune réaction inflammatoire ; d'autre part, les kystes sont suffisamment petits pour n'être visibles qu'à un examen minutieux. Ils peuvent siéger sur toutes les régions de la face : chanfrein, joues, paupières, ganache. La saillie qu'ils déterminent est minime : ils apparaissent comme enchâssés dans le derme. En

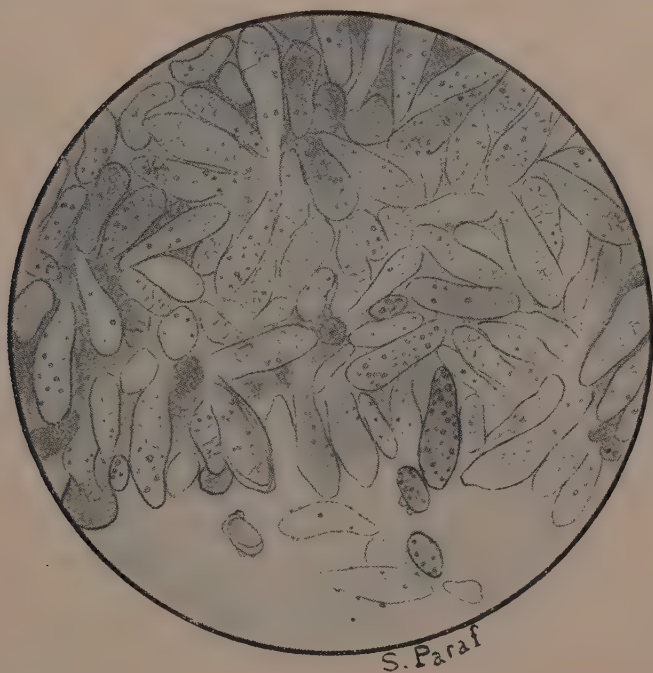


FIG. 1. — Contenu d'un kyste à *Démodex* examiné à l'état frais.

général, il en existe plusieurs chez le même individu. L'affection est nettement enzootique, et, dans une même troupe, on trouve le plus souvent un grand nombre de sujets atteints. Leur diamètre moyen est de 4 à 5 millimètres ; les plus volumineux peuvent atteindre presque 1 centimètre. Si on incise un kyste, on en extrait une matière homogène, blanchâtre, ayant l'aspect et la consistance d'un mortier épais. Il est très difficile, sinon impossible, de dissocier cette masse pour obtenir des préparations convenables : il faut avec la pointe d'un

scalpel en détacher une petite partie que l'on met à macérer dans la glycérine : on peut ensuite, par compression ménagée entre lame et lamelle, obtenir des préparations dans le genre de la figure 1. Les *Démodex*, qui sont à l'état de pureté à l'exclusion de tout autre élément, y apparaissent tassés les uns contre les autres. On peut en récolter une quantité de plusieurs centigrammes chez le même sujet : il n'est pas besoin de signaler l'intérêt d'une telle constatation qui permettra d'étudier l'action des *Démodex* sur l'organisme, et, en particulier, leur rôle cancérigène.

La pratique des coupes permet une étude plus approfondie.

La paroi est essentiellement constituée par une ou plusieurs couches de tissu fibreux : il n'existe aucune réaction leucocytaire. Dans certains kystes, le tissu fibreux est directement en contact avec les parasites; dans d'autres, il en est séparé par une mince couche protoplasmique parsemée de noyaux.

Sur certaines coupes, les kystes apparaissent composés de plusieurs petits kystes accolés les uns aux autres; ce n'est là qu'une apparence. En effet, en examinant un nombre suffisant de préparations faites à des niveaux différents, il est facile de se rendre compte qu'il s'agit de cloisons incomplètes, et qu'il n'y a, en réalité, qu'une seule cavité : les cloisons ne sont autre chose que les lames cloisonnantes qui existent dans les glandes sébacées, et cette constatation permet de fixer l'origine des kystes à *Démodex* dans l'envahissement parasitaire de ces glandes. La peau et les follicules pileux ne présentent aucune altération au voisinage des formations parasitaires. On ne trouve pas davantage des parasites aberrants dans les follicules laineux du voisinage : leur présence est strictement limitée aux formations kystiques : en un mot, la lésion se résume en un simple kyste parasitaire, et n'a aucun rapport avec les lésions de gale, que le même parasite détermine chez d'autres espèces animales.

L'intérieur du kyste est exclusivement occupé par les parasites : il n'y a aucune réaction leucocytaire. Les *Démodex* apparaissent moins pressés les uns contre les autres, que dans les préparations fraîches; ils ont sans doute été dissociés par les manœuvres de l'inclusion.

L'examen à l'état frais montre, en proportions variables sui-

vant les cas, des larves apodes à différents stades, des larves hexapodes en train de muer et de se transformer en nymphes octopodes, ces dernières constituant de beaucoup les éléments les plus abondants. Je n'ai pas rencontré d'individus adultes sexués.

On sait combien est délicate et difficile la détermination des différentes variétés de Démodex; seule une étude détaillée,

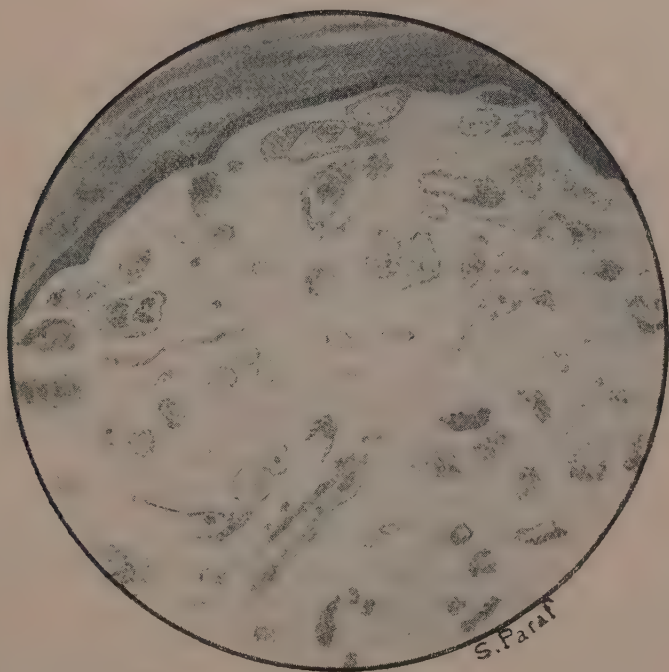


FIG. 2. — Coupe d'un kyste à Démodex.

faite par un spécialiste en la matière, pourrait nous fixer sur la place que doit occuper dans la classification le *Demodex ovis*.

Chez un certain nombre de sujets, j'ai observé des kystes macroscopiquement identiques aux kystes à Démodex, mais ne contenant pas de parasites; au début, j'ai pensé qu'il s'agissait de kystes anciens dans lesquels les Démodex avaient subi une destruction, aboutissant à l'apparition de résidus et de débris difficilement identifiables; en réalité, il s'agissait de kystes sébacés.



Ces kystes, sans doute pour les mêmes raisons que pour les kystes parasitaires, je les ai surtout observés au niveau de la face; j'ai pu cependant en voir un sur la patte au niveau du canon et coexistant avec un kyste parasitaire. Ce fait ne constitue d'ailleurs pas une exception, et, chez le même sujet, on voit très souvent la coexistence d'un kyste sébacé, soit avec des kystes parasitaires, soit avec des abcès.

En voici quelques exemples :

Brebis 453, 2 kystes sébacés et 2 kystes à Démodex.

Brebis 474, 1 kyste sébacé et 1 abcès.

Brebis 473, 1 kyste sébacé, 1 kyste à Démodex et 1 abcès.

Brebis F. 88, 4 kystes à Démodex et 1 abcès.

Brebis 911, 1 kyste à Démodex et 1 kyste sébacé sur le canon.

Dans la troupe 485, sur 4 prélèvements faits au parc sur 4 sujets pris au hasard, l'examen pratiqué au laboratoire révèle 1 kyste à Démodex, 1 kyste sébacé, 2 abcès.

La brebis 476, faisant partie d'une troupe infestée par les abcès présente 1 abcès sur l'oreille, et sur le museau 1 kyste sébacé.

Troupe C, sur 4 sujets examinés, je note : 1 abcès à l'aîne gros comme un œuf, 1 abcès de la ganache et 3 kystes à Démodex, 1 kyste à Démodex, 1 abcès.

Troupe P, 1 Brebis avec 1 abcès à l'épaule du volume du poing, 1 Bélier suspecté d'avoir introduit la maladie, avec 12 abcès ou kystes répartis sur la tête, dont 1 kyste sébacé, 2 Brebis avec des abcès pérिमammaires.

On voit que kystes sébacés et kystes à Démodex sont fréquemment associés, et présentent le même caractère enzootique.

Les kystes sébacés peuvent atteindre un volume sensiblement plus grand que les kystes parasitaires; j'en ai vu qui pesaient jusqu'à 5 grammes.

Ils sont essentiellement constitués par une paroi fibreuse; en certains endroits, cette paroi est en rapport direct avec du tissu glandulaire sébacé qui a pris un développement plus grand que normalement, sans toutefois présenter le moindre caractère néoplasique. En d'autres points du même kyste, la paroi fibreuse est directement en contact avec le contenu; sur d'autres, elle en est séparée par un épithélium malpighien. Le

contenu est celui de tous les kystes sébacés ; on y trouve des débris épithéliaux résultant de l'involution de l'épithélium, lames kératinisées, cellules isolées en forme de tuiles ou d'écailles ; ces formations cornées sont parfois agglomérées en séries concentriques, en bulbe d'oignon, et ne sont pas sans rappeler quelque peu les globes cornés des épithéliomas spino-cellulaires.

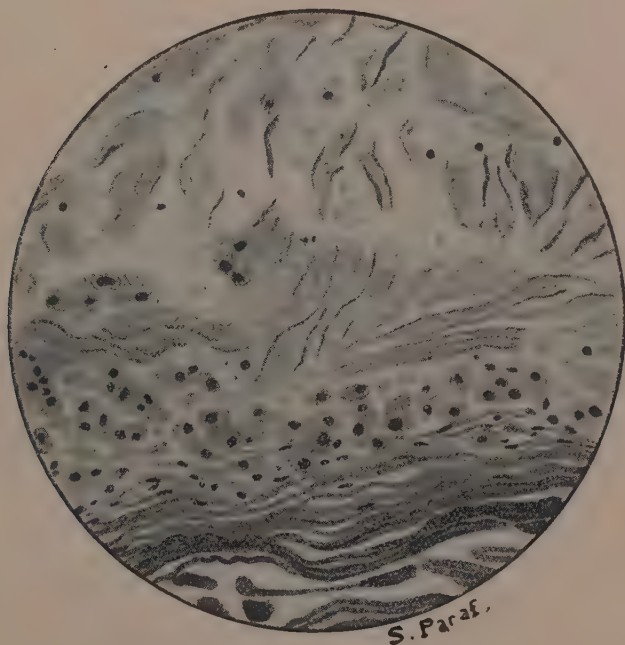


FIG. 3. — Coupe d'un kyste sébacé.

A côté de cellules ayant subi l'involution cornée, on en trouve un grand nombre qui ont subi la dégénérescence graisseuse, et se présentent sous forme de globes extrêmement réfringents. Enfin, pour être complet, je dois signaler que, dans un cas, j'ai constaté la présence de débris de laine ; cette constatation a été faite sur une pièce qui avait été incluse sans être ouverte ; il ne saurait donc s'agir d'une impureté venue de l'extérieur.

La figure 3 représente la coupe d'un kyste sébacé ; on voit en bas l'enveloppe fibreuse, reposant sur elle, des cellules glan-

dulaires; au centre, des lamelles épidermiques et des cellules cornées.

Il paraît difficile d'imputer au seul hasard la coexistence fréquente chez le même sujet de kystes à *Démodex*, de kystes sébacés et d'abcès, et l'on est en droit de se demander s'il n'existe pas une relation entre les trois ordres de lésions.

Que des kystes, parasites ou sébacés, puissent s'infecter et suppurer, c'est là un fait qui est, pourrait-on dire, banal, et dont on connaît de nombreux exemples, aussi bien en médecine humaine que vétérinaire; l'infection des kystes sébacés ou dermoïdes, des kystes hydatiques, et leur terminaison par suppuration est une complication fréquente et bien connue de ces lésions.

En ce qui concerne les kystes à *Démodex*, j'ai eu la bonne fortune de rencontrer un kyste en voie d'infection. Il s'agit de la Brebis 453, qui était porteuse de 2 kystes sébacés, 2 kystes à *Démodex* et 2 abcès. L'animal, en mauvais état, fut sacrifié, et une hémoculture en bouillon donna un *Staphylocoque* dont les repiquages en milieux ordinaires demeurèrent stériles. L'autopsie révéla des lésions de broncho-pneumonie chronique avec suppuration. Un kyste fut inclus, et soumis à un examen histologique. La figure 4 reproduit une coupe de ce kyste, qui était précisément un kyste à *Démodex*, en voie d'infection par le *Staphylocoque*; on remarque au-dessous de la paroi fibreuse une couche épaisse de microbes couvrant la paroi interne du kyste; de cette couche, les microbes sont en train d'essaimer vers l'intérieur de la tumeur et s'insinuent entre les parasites.

La démonstration en ce qui concerne les abcès de la face est donc complète; le *Démodex* prépare la voie à la suppuration.

Quant aux rapports entre kystes sébacés et parasites, je n'ai pas eu la chance de rencontrer un cas aussi démonstratif, et les observations que je vais présenter — limitées d'ailleurs aux seuls abcès de la face — doivent être considérées plutôt comme une hypothèse qu'une explication définitive.

Le cloisonnement incomplet des kystes, aussi bien sébacés que démodéciques, la structure épithéliale de leur paroi interne ne permettent pas de douter que les deux variétés ne se développent aux dépens des glandes sébacées; le problème qui se



pose est de savoir si les *Démodes* envahissent une glande normale, ou ayant déjà subi l'involution kystique.

Malgré le grand nombre de kystes examinés, aussi bien à l'état frais que sur de très nombreuses coupes, il ne m'a pas été donné de rencontrer de kystes mixtes, ni d'observer l'envahissement parasitaire d'un kyste sébacé.

Dans deux cas, sur des pièces coupées en entier, et dans une

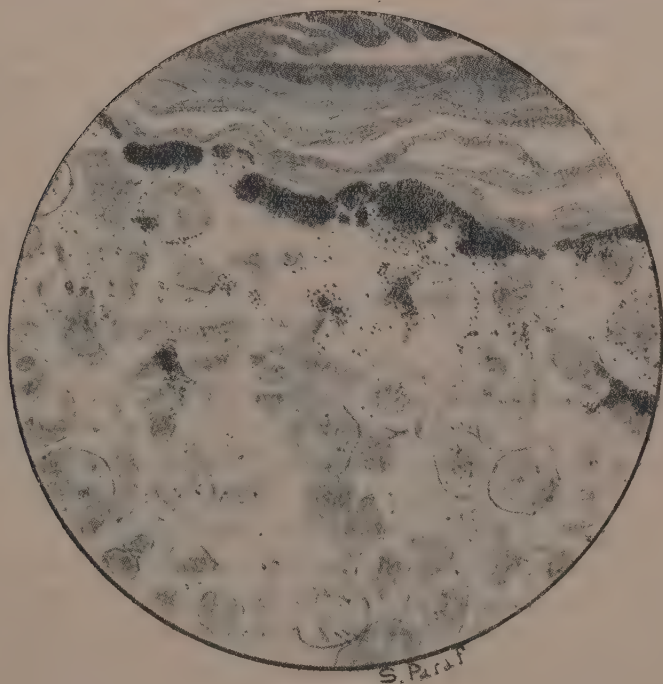


FIG. 4. — Coupe d'un kyste à *Démodes* en voie d'infection.

zone très étroite, j'ai pu observer dans des kystes parasitaires des débris épithéliaux; fait à noter, il ne s'agissait pas de restes glandulaires normaux, mais bien de lamelles kératinisées, telles que celles que l'on rencontre dans les kystes sébacés. Ces faits sont évidemment insuffisants pour affirmer que les *Démodes* envahissent des kystes sébacés avant occlusion du canal excréteur, mais ils montrent cependant que ce n'est point là une hypothèse invraisemblable.

D'autre part, le développement des parasites dans des glan-

des normales soulève quelques difficultés. Les glandes sébacées sont microscopiques; par contre, les kystes peuvent atteindre un diamètre de 1 centimètre et contenir des centaines de parasites; on s'explique mal le développement d'une masse parasitaire aussi considérable aux dépens d'une si faible quantité de substance glandulaire, et leur évolution aux dépens d'un kyste déjà formé, ou du moins en voie d'évolution, paraît fournir une explication plus plausible. Des observations nouvelles et répétées sont nécessaires pour solutionner la question des rapports entre les différentes variétés de kystes, mais l'étude de l'origine des kystes sébacés permet quelques constatations qui ne sont pas dénuées d'intérêt.

L'existence dans une même troupe de kystes sébacés sur un grand nombre de sujets ne peut guère s'expliquer que par l'hérédité; on sait combien cette dernière joue un grand rôle dans l'élevage du Mouton. Un petit nombre d'éleveurs produisent des Béliers, qui sont vendus ou loués aux propriétaires de troupeaux; la lutte dure quatre à six semaines, et l'on compte 1 Bélier pour 25 ou 30 Brebis. Ce sont en général les mêmes Béliers, ou leurs descendants, qui sont utilisés pendant de longues années par le même propriétaire; les Brebis sont fécondées par leurs propres ascendants ou par leurs frères; toutes les conditions sont donc remplies pour obtenir des types stables et perfectionnés, tant au point de vue de la production de la viande que de la laine. Il est toutefois permis de se demander si chez certains sujets trop sélectionnés au point de vue laine, trop poussés à la laine, il ne se produit pas un hyperfonctionnement de l'épiderme et de ses dépendances, se traduisant par un développement exagéré du système pilo-sébacé, dont le dernier aboutissant serait la production de kystes. Cette hypothèse expliquerait le caractère enzootique des kystes sébacés qui, en tout état de cause, représentent une anomalie de développement; on se trouverait, en définitive, en présence d'une véritable maladie héréditaire et familiale, la maladie kystique sébacée.

Relativement aux grands abcès du tronc, la question d'origine est moins claire, car nous manquons totalement de documents sur les lésions à leur début. J'ai indiqué plus haut les raisons pour lesquelles ces abcès ne sont visibles que lors-

qu'ils ont atteint un volume considérable, et qu'il est devenu impossible d'y retrouver trace de la lésion originelle, sébacée, parasitaire ou autre, qui en aurait pu être le point de départ.

Ces abcès infestent certaines troupes où le chiffre des sujets touchés atteint un coefficient très élevé, alors que dans le voisinage immédiat, à portée de contagion, d'autres troupes demeurent totalement indemnes : constatation plus en faveur d'une prédisposition héréditaire que de la contagion. D'autre part, dans le pus des abcès on trouve des microbes banaux, ubiquitaires, le *Staphylocoque* (1), et, beaucoup plus rarement, le *Preisz-Nocard* : on s'explique mal, qu'avec des germes aussi répandus, l'infection reste localisée pendant des années à certaines troupes, alors que les troupes voisines demeurent indemnes. On est ainsi conduit à envisager l'existence d'une prédisposition héréditaire. Cette prédisposition pourrait être directe, se traduisant par une plus grande réceptivité pour les agents microbiens, ou bien, indirecte comme pour les abcès de la face, et résulter de l'existence de kystes sébacés ou de toute autre lésion congénitale ayant jusqu'ici échappé à l'examen, et favorisant la fixation microbienne.

Enfin, il est intéressant de noter que la suppuration caséuse semble bien être une maladie d'apparition récente : il m'a été impossible d'en trouver mention dans les anciens auteurs, ce qui paraît extraordinaire pour une maladie se traduisant par des abcès de 300 à 400 grammes et ayant une grande importance économique par la dépréciation des sujets atteints. Les troupes les plus frappées sont les races les plus perfectionnées, les plus sélectionnées. La maladie est inconnue en Algérie où il n'existe que des races rustiques ou primitives. On voit donc que pour les grands abcès du tronc, aussi bien que pour ceux de la face, on est conduit à envisager la même origine, hérédité chez des races trop sélectionnées.

Existe-t-il pour les abcès du tronc une lésion prédisposante qui ne soit pas héréditaire ou sébacée, mais parasitaire?

Les kystes à *Démox* du tronc sont à l'heure actuelle bien connus, mais leur relation avec les abcès est encore à démon-

(1) La *Botryomycose* du Mouton (abcès du Mouton, maladie caséuse). Ces *Annales*, 42, mars 1928, p. 256.



trer : leur étude en effet a été faite sur des peaux isolées dans le seul but d'établir leur importance au point de vue de la dépréciation des cuirs ; il n'est donc pas étonnant que, dans ces conditions, leur relation avec les abcès ait pu échapper. Quant aux kystes sébacés du tronc, ils n'ont pas été signalés jusqu'ici, et il est fort possible qu'ils aient été confondus, comme cela m'est arrivé à moi-même au début, avec des kystes parasitaires.

Au cours de centaines d'examens de pus de suppuration caséuse effectués depuis dix ans, j'ai rencontré dans ces pus si spéciaux des débris difficilement identifiables faute de réactions spécifiques, et qui auraient pu être des résidus sébacés ou démodéciques : une seule chose est certaine, c'est la présence dans certains abcès de fragments de laine : il ne saurait s'agir d'impuretés venues de l'extérieur, car je n'ai tenu compte que des débris nettement amalgamés dans le pus, et entourés, au moins en partie, d'un manchon leucocytaire.

Arrivé au terme de cette étude, il nous apparaît donc difficile de poser des conclusions fermes, relativement aux grands abcès de la suppuration caséuse : on n'arrive qu'à des hypothèses difficilement vérifiables dans un laboratoire. La solution doit être cherchée sur un autre terrain. Il faudrait pouvoir disposer de plusieurs exploitations, saines et contaminées, avec un nombre important de sujets, de races différentes, les suivre pendant plusieurs générations, établir des contacts entre certaines catégories, et pratiquer l'autopsie minutieuse de tous les sujets.

La dépense serait évidemment assez élevée, mais c'est là le seul moyen d'arriver à un résultat sur l'origine d'une maladie dont les dégâts se chiffrent par millions chaque année : il serait ainsi possible d'établir nettement si l'on se trouve en présence d'une maladie contagieuse, ou bien d'une maladie due à l'hérédité. Dans le premier cas, il semble que les méthodes de vaccination n'aient pas donné grands résultats ; dans le second, par une sélection rationnelle, en éliminant certaines races, il serait peut-être possible d'arriver à une extinction de la maladie.

Je ne puis terminer ce travail, consacré en grande partie au *Démodex*, sans envisager la question de son rôle possible dans l'étiologie du cancer. On sait que cette hypothèse a été émise

pour la première fois par A. Borrel, qui a constaté la présence de ce parasite dans certains cancers mammaires ou cutanés. Dès mes premières observations en 1925, j'ai fixé mon attention sur ce point, pensant que la possibilité d'avoir, à volonté, un matériel parasitaire important favoriserait la solution de la question. J'avais même supposé un instant que le premier kyste sébacé observé chez un sujet porteur de kystes à Démodex était peut-être dû à l'action de parasites disparus au cours de l'évolution. Mes recherches ultérieures m'ont démontré qu'il s'agissait, non de réaction épithéliale néoplasique, mais bien d'un kyste sébacé. D'autre part, je n'ai jamais vu de cancer de la face dans les nombreuses troupes infestées de kystes à Démodex, que j'observe depuis des années : de plus, les recherches dans la littérature ont été entièrement négatives, le cancer de la face n'a jamais été signalé chez le Mouton. Enfin, dans de nombreux kystes bourrés d'embryons de Démodex, je n'ai observé aucune métaplasie ou hyperplasie épithéliale : le plus souvent même, la couche épithéliale de la paroi interne a disparu, et le kyste est limité à son intérieur par une membrane fibreuse, en contact direct avec le parasite. Donc, au moins en ce qui concerne le Mouton, il ne semble pas que le Démodex soit doué d'un pouvoir cancérigène. Les Ovins sont pourtant susceptibles de faire du cancer ; le cancer pulmonaire est fréquent chez eux, et j'ai pu précisément démontrer qu'il était l'aboutissant d'une atteinte antérieure de Strongylose (1).

*(Chartres, Laboratoire départemental  
de Bactériologie d'Eure-et-Loir.)*

(1) Origine vermineuse du cancer pulmonaire de la Brebis. *C. R. Soc. de Biol.*, 95, 18 décembre 1926, p. 1540.

## UTILISATION DES MICROBES DANS LA LUTTE CONTRE LA PYRALE DU MAÏS

[SECOND MÉMOIRE]

par S. METALNIKOV, B. HERGULA et Miss STRAIL

Nous avons fait l'an dernier, avec Chorine, les premiers essais sur l'utilisation des microbes dans la lutte contre la pyrale du maïs.

Ces essais ont donné des résultats très satisfaisants (1). Ils ont démontré que les plantes pulvérisées avec les émulsions de nos microbes ont beaucoup mieux résisté à l'infection que les plantes de contrôle.

Au printemps de cette année, nous avons repris ces travaux au Jardin botanique de Zagreb.

Grâce à l'obligeance du professeur Vouk, directeur du Jardin botanique, nous avons eu tout ce qui nous était nécessaire pour accomplir ce travail : une grande quantité de petites chenilles pour l'infection des plantes et un champ d'expérience ensemencé de maïs (*Hrvatica* et *Dent de Cheval*); nous l'en remercions très sincèrement.

Nous avons préparé tout un programme de travaux pour cette année, le voici :

- 1° Avant tout il fallait déterminer lequel, parmi tous nos microbes, convenait le mieux à la lutte contre les pyrales;
- 2° Combien de temps les microbes conservent leur virulence sur les plantes?
- 3° Quelle est la meilleure méthode de traitement pour les plantes : est-ce avec des émulsions de microbes ou avec des poudres de spores que nous avons préparées?

(1) METALNIKOV et CHORINE. Ces *Annales*, 43, 1929, p. 1391.



4° On sait bien que les émulsions ne s'accrochent pas à la surface lisse des feuilles. N'y a-t-il pas de substance qui pourrait favoriser cet accrochement?

5° Enfin, nous avons voulu étudier la question des mélanges de microbes : faut-il employer un mélange des microbes les plus virulents ou n'employer qu'un microbe, le plus virulent?

Malheureusement, lorsqu'il fallut faire toutes ces expériences, au mois de juin, le temps était très défavorable : la pluie et les orages étaient journaliers; les expériences commencées le matin étaient souvent complètement anéanties le soir même ou le lendemain.

Néanmoins, nous avons pu en réussir quelques-unes, très démonstratives.

Nous avons préparé toutes les cultures de microbes en grande quantité à l'Institut Hygiénique de Zagreb. Grâce à l'obligeance du directeur de cet Institut, M. le D<sup>r</sup> J. Rosuhin et du chef de service, le D<sup>r</sup> Calitch, nous avons pu avoir à notre disposition tout ce qui nous était nécessaire pour notre travail. Nous les en remercions très sincèrement.

Nous avons préparé la plus grande partie de nos cultures dans de grandes boîtes de Roux, sur gélose de pomme de terre qui constitue un milieu excellent. Quatre-dix jours après l'ensemencement, la couche épaisse des microbes de chaque boîte était raclée et émulsionnée dans 100 cent. cubes d'eau stérile. Nous les avons conservés assez longtemps dans la glacière.

Les jours d'expérience les émulsions-mères étaient diluées dans de l'eau courante à 1 p. 10 et à 1 p. 20.

Les plantes étaient pulvérisées au moyen de pulvérisateurs spéciaux. Un-trois jours après cette opération, nous avons infecté les plantes traitées par des petites chenilles de pyrale de maïs. Nous en avons placé 30 sur chaque plante. Les plantes de contrôle en ont reçu autant.

Lorsque le temps n'était pas sûr, nous faisons l'infection le même jour (cinq-dix heures après la pulvérisation).

Les résultats de ces expériences ont été étudiés à la fin du mois d'août.

Chaque plante était soigneusement examinée et la quantité de chenilles trouvées dans la tige soigneusement comptée.

Nous donnons ci-dessous les résultats observés :

Nous commençons par les plantes-contrôles qui furent infectées avec la même quantité de chenilles que les plantes traitées (30 chenilles sur chaque plante).

EXPÉRIENCE 1. — *Contrôle (Dent de cheval et Hrvatica). Plantes infestées par les chenilles (30 sur chacune d'elles) :*

	DATE de pulvérisation	DATE de l'infection	QUANTITÉ de plantes examinées	QUANTITÉ de plantes infectées	QUANTITÉ de chenilles déposées	QUANTITÉ de chenilles trouvées	POURCENTAGE
I. Dent de cheval .		5 juillet.	50	48	1.500	274	18,3
II. Dent de cheval .		30 juin.	25	23	750	108	14,4
III. Hrvatica . . . .		20 juin.	27	20	810	109	13,5
IV. Hrvatica . . . .		5 juillet.	50	43	1.500	187	12,4
Total . . . . .			150	134	4.560	678	15,0

EXPÉRIENCE 2. — *Pulvérisation de culture de Cazaubon sur les plantes :*

	DATE de pulvérisation	DATE de l'infection	QUANTITÉ de plantes examinées	QUANTITÉ de plantes infectées	QUANTITÉ de chenilles déposées	QUANTITÉ de chenilles trouvées	POURCENTAGE
I. B. Cazaubon . .	23 juin.	24 juin.	15	1	450	1	0,2
II. B. Cazaubon . .	24 juin.	25 juin.	12	2	360	12	3,3
III. B. Cazaubon . .	25 juin.	26 juin.	11	1	330	1	0
Total . . . . .			38	4	1.140	14	1,2

Nous avons pulvérisé 3 rayons de Maïs (Hrvatica) avec une culture de Cazaubon préparée sur gélose à la pomme de terre. Dilution 1 : 10. Les rayons 1 et 2 ont été traités par une émulsion préparée sur eau courante. Le rayon 3 par la même émulsion avec une petite dose de gomme arab. (1 : 1.000).

Le rayon 2 a donné 12 chenilles, mais nous ne les avons trouvées que sur deux plantes (9 sur l'une et 3 sur l'autre). Toutes les autres plantes étaient indemnes.

EXPÉRIENCE 3. — *Pulvérisation de culture de B. thuringiensis.*

Trois rayons de maïs (Hrvatica) reçurent des pulvérisations du *B. thuringiensis* préparées sur gélose ordinaire (Dilution : 1 : 10) :

	DATE de pulvérisation	DATE de l'infection	QUANTITÉ de plantes examinées	QUANTITÉ de plantes infectées	QUANTITÉ de chenilles déposées	QUANTITÉ de chenilles trouvées	POURCENTAGE	REMARQUES
I. <i>B. thuringiensis</i> .	23 juin.	24 juin.	15	5	450	5	0,6	Pluie le 27 juin.
II. <i>B. thuringiensis</i> .	24 juin.	25 juin.	12	4	360	5	0,5	
III. <i>B. thuringiensis</i> .	24 juin.	28 juin.	11	9	330	26	7,8	
Total . . . . .			38	18	1.140	36	3,2	

Bien que la culture de *B. thuringiensis* ait été assez vieille, elle a très bien conservé sa virulence.

Le rayon III était infecté par des chenilles (30 sur chaque plante) quatre jours après la pulvérisation. En outre, il a reçu une assez forte pluie le 27 juin.

Nous avons trouvé 26 chenilles sur 11 plantes, c'est-à-dire deux fois moins que sur les contrôles (V. Exp. I).

EXPÉRIENCE 4. — *Plantes (maïs Hrvatica) traitées avec des émulsions de cultures Pyrenei n°s 1 et 2.*

Nous avons pulvérisé des émulsions de *Pyrenei* n°s 1 et 2 sur 5 rayons de plantes.

Malheureusement les pluies et les orages ont commencé le même jour et nous avons dû répéter plusieurs fois ces expériences.

	DATE de pulvérisation	DATE de l'infection	QUANTITÉ de plantes examinées	QUANTITÉ de plantes infectées	QUANTITÉ de chenilles déposées	QUANTITÉ de chenilles trouvées	POURCENTAGE	REMARQUES
I. <i>Pyrenei</i> n° 1 .	25 juin.	26 juin.	11	3	330	10	3,0	Pluies et orages.
II. <i>Pyrenei</i> n° 2 .	24 juin.	28 juin.	10	2	300	5	1,6	
	28 juin.							
III. <i>Pyrenei</i> n° 1 .	24 juin.	30 juin.	10	6	300	11	3,06	Pluies et orages.
	28 juin.							
	30 juin.							
IV. <i>Pyrenei</i> n° 1 .	25 juin.	30 juin.	13	5	390	7	1,3	Pluies et orages.
	29. 30 juin.							
V. <i>Pyrenei</i> n° 2 .	25 juin.	26 juin.	14	2	420	3	0,6	
Total . . . . .			58	20	1.740	36	2,1	

EXPÉRIENCE 5. — *Plantes (Maïs Hrvatica) traitées avec un mélange de cultures.*

Nous avons préparé un mélange des cultures suivantes : *B. cazaubon*, *B. pyrenei* n° 1 et *B. pyrenei* n° 2 (Dilution 1 : 10). On pulvérisa les plantes deux et trois fois à cause des pluies.

	DATE de pulvérisation	DATE de l'infection	QUANTITÉ de plantes examinées	QUANTITÉ de plantes infectées	QUANTITÉ de chenilles déposées	QUANTITÉ de chenilles trouvées	POURCENTAGE	REMARQUES
I. Mélanges. . .	23, 28 juin.	28 juin.	14	1	420	1	0,2	Pluies.
II. Mélanges. . .	26, 28 juin.	1 <sup>er</sup> juillet.	32	2	960	3	0,1	Pluies.
III. Mélanges. . .	1 <sup>er</sup> juillet.		13	7	390	10	1,7	Pluies.
	28 juin.	2 juillet.						
Total . . . . .			59	10	1 750	14	0,8	

Les résultats de cette expérience sont très démonstratifs. Le rayon I n'a donné, sur 14 plantes, qu'une seule chenille. Sur le rayon II, comprenant 32 plantes, nous n'avons trouvé que trois chenilles.

Sur le rayon III il y avait 10 chenilles, mais il fut infesté trois jours après la pulvérisation.

EXPÉRIENCE VI. — *Mais Hrvatica traité avec des spores en poudre.*

Les spores en poudre dont nous nous sommes servis étaient préparés depuis trois, cinq mois. Le mélange comprenait les spores suivantes : *B. cazaubon*, *B. pyrenei* nos 1 et 2, *B. galleriæ*, *B. thuringiensis* et *B. italicus*.

	DATE de pulvérisation	DATE de l'infection	QUANTITÉ de plantes examinées	QUANTITÉ de plantes infectées	QUANTITÉ de chenilles déposées	QUANTITÉ de chenilles trouvées	POURCENTAGE	REMARQUES
I. Mélange. . . . .	29 juin.	30 juin.	15	1	470	1	0,2	Pluie.
II. Mélange. . . . .	30 juin.	30 juin.	12	1	360	2	0,5	
III. <i>Galleria</i> n° 2. . .	7 juillet.	7 juillet.	10	5	300	12	1,3	Pluie tout de suite après la pulvérisation.
IV. <i>B. thuringiensis</i> . .	7 juillet.	7 juillet.	8	4	240	6	2,5	Pluies.
V. <i>B. cazaubon</i> . . .	7 juillet.	7 juillet.	10	2	300	6	0,6	Pluies.
VI. <i>B. italicus</i> . . .	7 juillet.	7 juillet.	10	2	300	2	0,6	Pluies.
Total. . . . .			65	15	1.950	19	0,7	

Les résultats que nous avons obtenus démontrent que les poudres conviennent mieux que les émulsions. Cela s'explique peut-être par ce fait que les poudres s'accrochent mieux aux feuilles.

Toutes les autres expériences que nous avons faites au mois



de juillet n'ont pas donné de bons résultats en raison du temps qui fut très défavorable; il y avait des orages et il pleuvait presque tous les jours.

#### CONCLUSIONS.

En étudiant les tableaux que nous avons donnés, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1° Toutes les plantes que nous avons traitées par nos microbes (mélangés ou isolément) ont très bien résisté à l'infection artificielle.

Tandis que les contrôles donnaient 13-14 p. 100 en moyenne de chenilles, les plantes traitées n'en donnèrent que 0,1-2,5 p. 100.

2° De tous les microbes essayés, c'est le *B. cazaubon* qui nous a donné les meilleurs résultats;

3° Les cultures préparées sur gélose à pomme de terre ont donné de très bons résultats;

4° Les expériences faites avec les émulsions de bactéries et avec des spores en poudre ont démontré que les poudres donnent les meilleurs résultats;

5° Les mélanges de microbes ont donné de meilleurs résultats que les microbes isolés.

## SUR L'UTILISATION DES MICROBES DANS LA LUTTE CONTRE LA PYRALE DU MAÏS

par V. CHORINE.

(*Institut Pasteur de Paris,  
et Académie Royale d'Agriculture à Keszthely, Hongrie.*)

Pour continuer les recherches sur l'application des microbes entomophytes dans la lutte contre la Pyrale du maïs, que depuis trois ans nous avons entreprise en collaboration avec M. Métalnikov, j'ai été envoyé par l'Institut Pasteur de Paris en Hongrie, où je devais poursuivre mes expériences à Keszthely à l'Académie Royale d'Agriculture (1).

L'année dernière, les expériences faites à Zagreb ont donné des résultats très encourageants. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le *Bacterium thuringiensis* de Berliner.

Au cours de ces derniers mois, quelques nouveaux microbes ont été isolés par M. Métalnikov. C'est ainsi que nos expériences, que nous allons exposer, ont été faites dans deux directions différentes :

1° Trouver une meilleure méthode pour l'application des microbes dans la lutte contre la Pyrale du maïs.

2° Contrôler les résultats obtenus au laboratoire avec de nouveaux microbes, par l'application de ces microbes dans la lutte contre le *Pyrausta* en plein champ.

Nous allons exposer en premier lieu les conditions de nos expériences.

(1) Je suis très reconnaissant à M. le directeur de l'Académie J. Sztancovics de son chaleureux accueil et de son empressement à nous faciliter le plus possible notre travail.

Je suis très heureux de remercier également M. le professeur Naray qui dirige le laboratoire de bactériologie de l'Académie, et qui a fourni le matériel nécessaire pour le travail.

Je remercie aussi M. le professeur L. Cziki qui nous a donné son précieux concours pendant notre travail aux champs.

## CULTURE DE PETITES CHENILLES DE LA PYRALE DU MAÏS.

Le plus grand nombre des chenilles de *Pyrausta*, dont je me suis servi pour la culture, m'ont été envoyées par M. le professeur Kottlan, à qui j'exprime toute ma gratitude. Ces chenilles étaient originaires de Hongrie.

De même j'ai reçu un certain nombre de chenilles de Russie et de Crimée principalement, que M. Ellinger a bien voulu me donner.

J'avais également quelques dizaines de chenilles du Canada, et enfin M. Vouk m'a envoyé de Zagreb une centaine de chenilles.

Les papillons qui sont sortis de ces chenilles ont été mis dans de grands bocaux en verre (environ 40 centimètres de diamètre sur 30 centimètres de hauteur), 40 ou 50 dans chaque bocal, dont le fond et les côtés étaient couverts par du papier non lisse, afin que les papillons pussent s'y poser facilement. Un morceau de carton a été mis aussi dans chaque bocal dans le même but.

Pour que l'air dans les bocaux ne fût pas très sec, nous avons mouillé chaque jour la face inférieure du couvercle en verre des bocaux et nous avons aussi mis dans chacun d'eux un peu de coton mouillé avec de l'eau sucrée, que nous avons renouvelé tous les deux jours pour que les papillons puissent se nourrir.

Les papillons ont pondu sur le papier et sur le carton, que nous avons remplacés par d'autres tous les quatre ou cinq jours.

Le papier et le carton couverts par les œufs de différents bocaux ont été coupés en morceaux et ont été mis dans un bocal à part.

Nous avons chaque jour déposé sur les plantes, au moyen d'un pinceau, les petites chenilles sorties des œufs.

Les premières chenilles ont apparu le 24 juin, et, depuis cette date, nous avons eu chaque jour jusqu'au 17 juillet d'une à 3.000 chenilles neuves.

Au cours de nos expériences, nous avons déposé sur les plantes plus de 40.000 petites chenilles de Pyrale du maïs.

## CULTURE DES MICROBES.

Au cours de nos expériences, nous avons utilisé les microbes suivants :

1° *Bacterium thuringiensis* de Berliner, dont nous possédons à présent 9 souches, car nous avons isolé 7 souches de chenilles d'*Ephestia kuhniella* Zell. pendant l'hiver dernier.

Pour les expériences que nous allons exposer ci-dessous, nous avons utilisé les souches n° 1 et n° 3 isolées cette année.

2° Bactérie de Cazaubon; 3° Bactérie Pyrénées n° 1; 4° Bactérie Pyrénées n° 2, que dernièrement on a isolé des chenilles de *Pyrusta*.

3° *Bacterium galleriæ* n° 2, qui l'année dernière ne nous a pas donné de bons résultats aux champs, bien que les expériences au laboratoire nous aient donné de très bons et très constants résultats.

Tous ces microbes ont été cultivés sur la gélose ordinaire ajustée à  $pH=7,0=7,2$  dans des boîtes de colle ou sur des boîtes de Pétri.

Au bout de dix à vingt jours, les cultures ont été émulsionnées dans de l'eau de source. La concentration employée était la suivante : les microbes qui couvrent la surface du milieu d'une boîte de Pétri de 30 centimètres de diamètre ont été émulsionnés dans 5 litres d'eau de robinet et cette émulsion nous a servi à infecter de 100 à 120 plantes. Nous n'avons pas utilisé les cultures en bouillon, car nos expériences précédentes nous ont montré qu'en se desséchant le bouillon peut devenir toxique pour les microbes qu'il contient, du fait que la concentration des diverses substances devient très forte; les microbes, étant alors affaiblis et peut-être en partie morts, ne sont plus capables de produire *per os* la maladie mortelle des chenilles.

Nous avons utilisé aussi le *Bacterium thuringiensis* à l'état sec, en poudre, que nous avons préparée de la manière suivante : la culture de ce microbe sur gélose ordinaire dans des boîtes de Roux, âgée de douze jours, a été émulsionnée dans une petite quantité d'eau de source (10 ou 15 cent. cubes par boîte de Roux); à cette émulsion très épaisse, on a ajouté



une certaine quantité de talc pour qu'après le desséchement on puisse plus facilement préparer la poudre très fine, car sans le talc la préparation est beaucoup plus difficile.

On met l'émulsion de microbes sur un plateau large dans l'étuve à 37° pour la sécher, et, comme la quantité d'eau est très petite, le résidu est déjà sec au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures. On le broie dans un mortier, et après qu'on a obtenu la poudre fine on ajoute la quantité voulue de talc pour obtenir la poudre moins riche en microbes. Néanmoins, la quantité de microbes que nous avons utilisés en poudre pour infecter une plante est beaucoup plus forte que celle employée en liquide.

#### DIRECTION DE NOS RECHERCHES.

Pendant cet hiver, M. Métalnikov a isolé quelques microbes nouveaux qui se sont montrés très pathogènes pour les chenilles de *Pyrausta*.

Il est évident que les expériences de laboratoire doivent être répétées aux champs pour que nous puissions juger de la valeur que présente le microbe au point de vue de l'utilisation pratique; c'est ce que nous avons fait.

Parmi les microbes isolés dernièrement, nous avons employé la Bactérie de Cazaubon, la Bactérie des Pyrénées n° 1 et la Bactérie n° 2. Nous avons fait aussi des expériences analogues avec le *Bacterium galleriæ* n° 2 pour vérifier les expériences de l'année dernière.

EXPÉRIENCE 1. — Le 15 juillet 1930. Bactérie de Cazaubon. Une culture de douze jours de ce microbe sur la gélose ordinaire a été émulsionnée dans de l'eau de robinet : une boîte de Pétri de 20 centimètres de diamètre dans 3 litres d'eau, et avec cette émulsion nous avons arrosé 40 plantes de maïs vers 5 heures du soir.

Dès que les feuilles de maïs ont été sèches, c'est-à-dire une demi-heure après, on a déposé sur chaque plante 25 petites chenilles de *Pyrausta*. En même temps, nous avons infecté 25 plantes témoins avec 25 chenilles chacune.

EXPÉRIENCE 2. — Le 16 juillet 1930. Bactérie des Pyrénées n° 1. Une culture de treize jours de ce microbe sur la gélose ordinaire a été émulsionnée dans de l'eau de source; la concentration était la même que dans l'expérience précédente. De même, nous avons infecté avec cette émulsion 40 plantes de maïs et une demi-heure après nous avons déposé les chenilles : 25 sur chaque plante.

EXPÉRIENCE 3. — Le 16 juillet 1930. Bactérie des Pyrénées n° 2. Une culture de treize jours de ce microbe sur la gélose ordinaire nous a servi pour préparer une émulsion analogue à celles des expériences citées ci-dessus, et nous avons arrosé avec cette émulsion 40 plantes de maïs. Dès que les feuilles du maïs ont été sèches, nous avons déposé 25 chenilles sur chaque plante.

EXPÉRIENCE 4. — Le 17 juillet 1930. *Bacterium galleriæ* n° 2. Une culture de quatorze jours de ce microbe sur la gélose ordinaire, dans une boîte de Pétri de 20 centimètres de diamètre a été émulsionnée dans 3 litres d'eau de source. Nous avons arrosé avec cette émulsion 40 plantes de maïs, et dès que les feuilles de maïs ont été sèches nous avons déposé 25 chenilles sur chaque plante arrosée. En même temps, nous avons infecté 20 plantes témoins avec 25 chenilles chacune.

C'est ainsi que nous avons 40 plantes témoins, de même que chacune de ces 4 expériences se compose de 40 plantes.

La deuxième partie de nos recherches a été consacrée à l'étude des diverses méthodes pratiques pour l'application des microbes. L'année dernière, les expériences faites avec le *Bacterium thuringiensis* Berl. nous ont démontré que ce microbe est très efficace dans la lutte contre les chenilles de la Pyrale du maïs, et c'est lui qui a donné les meilleurs résultats dans les expériences aux champs. C'est pour cette raison que nous l'avons choisi pour ces recherches.

L'année passée, nous avons utilisé ce microbe en émulsion dans de l'eau de source. L'utilisation sous la forme de poudre est-elle plus pratique et donne-t-elle des résultats meilleurs? C'est la première question à laquelle nous avons voulu répondre.

La préparation est beaucoup plus compliquée pour la poudre que pour l'émulsion, mais la virulence du microbe en poudre se conserve très longtemps, au moins six à sept mois, car la poudre de *Bacterium thuringiensis* que nous avons préparée à Zagreb au mois de juin 1929 s'est montrée encore très virulente, de même que la poudre fraîchement préparée, au mois de janvier 1930, c'est-à-dire sept mois après la préparation.

EXPÉRIENCE 5. — Le 13 juillet 1930. Vers 5 heures du soir, 40 plantes de maïs ont été pulvérisées avec la poudre préparée à la fin du mois d'avril de six boîtes de Roux par la méthode indiquée ci-dessus, et une demi-heure après chaque plante a été infectée avec 25 chenilles de *Pyrausta* sorties quelques heures avant les œufs.

Comme plantes témoins, nous nous sommes servi de 40 plantes infectées deux et quatre jours plus tard, ainsi que nous l'avons mentionné dans les 4 premières expériences.

Toutes ces expériences, de même que les expériences de l'été de 1929, ont été faites de manière que les plantes traitées avec les microbes fussent infectées avec les chenilles très peu de temps après; cet intervalle de temps varie d'une demi-heure à deux ou trois jours.

D'autre part, il est connu que la période d'apparition massive des papillons de *Pyrausta* dans les conditions naturelles est d'environ de dix à quatorze jours, et tous les microbes ou les produits chimiques doivent être efficaces pendant ce laps de temps, ou doivent agir sur les jeunes chenilles qui vivent plusieurs jours après l'éclosion des œufs, au sommet des plantes, sous les gaines des feuilles supérieures les plus jeunes, ce qui permettra l'application plus tardive de l'insecticide.

Nous avons souvent l'occasion de trouver les chenilles sous la gaine des feuilles supérieures de la plante sept ou dix jours après l'infection. La période entre l'éclosion des œufs et la pénétration des chenilles à l'intérieur de la tige n'a pas encore été étudiée à ma connaissance. Est-ce que les plantes traitées une fois avec les microbes sont protégées contre la Pyrale du maïs pour un temps assez long? Dans ce cas, nous pourrions employer les microbes comme un moyen préservatif contre la *Pyrausta*. Les microbes peuvent-ils agir sur les chenilles jeunes qui n'ont pas encore pénétré à l'intérieur de la tige de la plante?

Pour étudier cette question, nous avons entrepris une série d'expériences sur un grand nombre de plantes afin d'avoir des chiffres moyens plus sûrs; les expériences sur un nombre restreint de plantes dans des conditions naturelles peuvent donner des résultats contradictoires, parce qu'il existe maints facteurs extérieurs étrangers à l'expérience qui peuvent modifier sensiblement les résultats. C'est pour cette raison que nous avons fait ces expériences très importantes au point de vue de l'application des microbes dans la lutte contre la Pyrale et contre les insectes en général sur un grand nombre de plantes. Chacune des expériences suivantes a été faite sur 200 plantes.

Nous avons infecté les plantes d'abord avec les microbes et une ou deux semaines après avec les chenilles, ou avec des microbes, et une demi-heure après avec les chenilles; enfin nous avons infecté les plantes d'abord avec les chenilles, et une ou deux semaines après avec les microbes.

L'âge des cultures de *Bacterium thuringiensis* que nous avons employées au cours de ces expériences variait de dix à vingt jours; la préparation et la concentration de l'émulsion ont été indiquées ci-dessus.

Toutes ces expériences ont été faites en même temps et simultanément à partir du 21 juin jusqu'au 15 juillet.

J'ai tenu beaucoup dans toutes ces expériences à ce que le même nombre de plantes fussent infectées chaque jour, afin que les conditions extérieures puissent être le plus semblables possible.

Chaque plante a été infectée avec 25 chenilles.

EXPÉRIENCE 7. — 200 plantes ont été infectées d'abord avec le *Bacterium thuringiensis*, et deux semaines après nous avons déposé sur chaque plante 25 petites chenilles.

EXPÉRIENCE 8. — 200 plantes ont été infectées d'abord avec le microbe et une semaine après avec les chenilles.

EXPÉRIENCE 9. — 200 plantes ont été infectées d'abord avec l'émulsion du microbe, et dès que les feuilles ont été sèches nous les avons infectées avec les chenilles.

EXPÉRIENCE 10. — 200 plantes ont été infectées d'abord avec les chenilles de la Pyrale du maïs, et une semaine après nous les avons arrosées avec une émulsion de *Bacterium thuringiensis*.

EXPÉRIENCE 11. — 200 plantes ont été infectées d'abord avec les chenilles de la Pyrale du maïs, et deux semaines après nous les avons arrosées avec une émulsion de microbe.

EXPÉRIENCE 12. — 200 plantes témoins ont été infectées seulement avec les chenilles.

#### LA RÉCOLTE DU MAÏS.

Nous avons fait la récolte du maïs du 9 au 18 septembre

Le nombre des épis développés sur chaque plante a été compté et chaque plante a été ensuite disséquée; puis le nombre des chenilles qui se sont développées a été compté.

Nous avons représenté les résultats obtenus dans les deux tableaux ci-après.

Dans le premier, nous avons représenté les résultats des expériences faites avec les nouveaux microbes, avec le *Bacte-*



*rium galleriæ* n° 2, et avec la poudre de *Bacterium thuringiensis*.

TABLEAU 1.

EXPÉRIENCES	NOMBRE de chenilles déposées par plantes	NOMBRE de chenilles trouvées par plante	MORTALITÉ des chenilles p. 100	NOMBRE de chenilles développées correspondant à 100 chenilles développées dans les plantes témoins
Expérience n° 1. Plantes traitées par l'émulsion de bactéries de Cazaubon.	25	0,35	98,60	8,5
Expérience n° 2. Plantes traitées par l'émulsion de bactéries des Pyrénées n° 1.	25	0,41	98,36	10,0
Expérience n° 3. Plantes traitées par l'émulsion de bactéries des Pyrénées n° 2.	25	1,6	93,60	30,0
Expérience n° 4. Plantes traitées par l'émulsion de <i>Bacterium galleriæ</i> n° 2.	25	2,3	90,80	56,1
Expérience n° 5. Plantes infec- tées avec la poudre de <i>Bacte- rium thuringiensis</i> .	25	0,30	90,80	7,3
Expérience n° 6 Plantes té- moins, infectées seulement avec les chenilles.	25	4,1	83,60	100,5

Par ces expériences, on voit que, parmi les nouveaux microbes, ce sont la Bactérie des Pyrénées n° 1 et la Bactérie de Cazaubon qui ont donné les meilleurs résultats. Ces deux microbes peuvent être utilisés de la même façon que le *Bacterium thuringiensis*.

Le *Bacterium galleriæ* n° 2 a donné un effet assez faible, de même que l'année passée.

La poudre de *Bacterium thuringiensis* a donné de très bons résultats, égaux à ceux obtenus avec l'émulsion de ce microbe.

Dans le deuxième tableau, nous avons représenté les résul-

tats des expériences faites avec le *Bacterium thuringiensis* d'après les diverses méthodes de l'application de ce microbe.

TABLEAU II.

EXPÉRIENCES	NOMBRE de chenilles déposées par plante	NOMBRE de chenilles trouvées par plante	MORTALITÉ des chenilles p. 100	NOMBRE de chenilles développées correspondant à 100 chenilles développées dans les plantes témoins	NOMBRE d'œufs développés pour 200 plantes
Expérience n° 7. Plantes infectées d'abord avec le microbe et deux semaines après avec les chenilles.	25	3,35	86,60	77,9	280
Expérience n° 8. Plantes infectées d'abord avec le microbe et deux semaines après avec les chenilles.	25	2,70	89,20	62,8	269
Expérience n° 9. Plantes infectées d'abord avec le microbe et une demi-heure après avec les chenilles.	25	0,32	98,72	7,4	282
Expérience n° 10. Plantes infectées d'abord avec les chenilles et une semaine après avec le microbe.	25	0,48	98,02	11,2	290
Expérience n° 11. Plantes infectées d'abord avec les chenilles et deux semaines après avec le microbe.	25	0,52	97,92	12,1	297
Expérience n° 12. Plantes témoins infectées seulement avec les chenilles.	25	4,3	82,80	100	265

Les résultats obtenus des expériences avec le *Bacterium thuringiensis*, faites chacune sur un grand nombre de plantes, confirment pleinement ceux obtenus avec ce microbe l'été passé à Zagreb, et montrent que les plantes doivent être arrosées quelques jours après que la période d'apparition massive des papillons de *Pyrausta* est déjà passée, car les microbes répartis

sur les plantes perdent déjà au bout d'une semaine la plus grande partie de leur efficacité; au contraire, les microbes agissent très bien une et même deux semaines après que les plantes sont infectées avec les chenilles.

Parmi les chenilles trouvées, nous en avons vu beaucoup de malades et de mortes à cause d'une maladie microbienne que nous avons constatée même dans les plantes témoins.

Pour toutes nos expériences, nous avons obtenu les chiffres suivants : 10,9 p. 100 de chenilles malades et mortes et 6 p. 100 des chenilles parasitées par les divers insectes.

De même, nous avons trouvé quelques pupes de *Pyrausta*, ce qui montre qu'il existe en Hongrie deux générations de la Pyrale du maïs.

Nous sommes en train d'étudier les chenilles malades et mortes pour voir si cette maladie est due au *Bacterium thuringiensis* qui s'est répandu sur tous les champs, ou si c'est une maladie due à d'autres microbes, peut-être nouveaux.

Cette année la mortalité des chenilles dans les plantes témoins a été très forte, et nous croyons que l'augmentation de la mortalité s'explique par l'existence de cette maladie bactérienne, dont nous parlerons dans notre prochaine publication.

#### CONCLUSIONS.

1° Le *Bacterium thuringiensis* Berl., la Bactérie de Cazaubon et la Bactérie des Pyrénées n° 1 sont les microbes les plus virulents pour les chenilles de la Pyrale du maïs et donnent les meilleurs résultats dans la lutte contre cet insecte.

2° L'utilisation de *Bacterium thuringiensis* Berl. contre la Pyrale du maïs en émulsion dans l'eau de source ou en poudre donne des résultats égaux et très bons.

3° L'application des microbes comme un procédé préservatif contre la Pyrale du maïs est impossible; la virulence des microbes répartis sur les plantes du maïs ne se conserve qu'un laps de temps très court.

4° Au contraire, l'application des microbes est très efficace quand toutes les chenilles sont déjà sorties des œufs depuis une ou deux semaines et se trouvent sous la gaine des feuilles supérieures des plantes.

5° Pour résoudre le problème de l'application pratique des microbes dans la lutte contre la Pyrale du maïs, il ne reste qu'une expérience à faire : c'est de répéter des expériences analogues, mais avec l'infection naturelle du maïs par les Pyrales du maïs, dans un endroit où une infection pareille est très intense, en se rendant compte des résultats déjà obtenus.



# INFLUENCE DU RAYONNEMENT MITOGÉNÉTIQUE SUR LA VITESSE DE MULTIPLICATION DES BACTÉRIES

par S. B. SEWERTZOVA.

(*Station de Bactériologie agronomique de Moscou.*)

## I. — DONNÉES HISTORIQUES.

Il y a environ six ans, Gourwitch a publié son premier mémoire (*Arch. Entw. Mechn.*, 1923) sur l'existence d'une induction purement biologique, capable de provoquer, à distance, un excès de mitoses dans les tissus en voie de multiplication cellulaire. Il émettait en même temps l'hypothèse d'un rayonnement mitogénétique spécifique issu de la pointe des racines d'oignon en voie de croissance. Gourwitch se basait sur l'observation suivante : si, à une certaine distance de la pointe de la racine d'oignon, croissant dans le sens vertical, on place, perpendiculairement à cette racine, la pointe d'une autre racine d'oignon, on trouve, en étudiant la répartition des mitoses sur les coupes médianes, symétriques par rapport à l'axe de la racine verticale, que le nombre total des mitoses sur le côté exposé de la racine verticale dépasse de 20 à 80 p. 100 le nombre des mitoses du côté non exposé. Dans les racines témoins, la différence qui existe quelquefois entre les deux moitiés de la racine ne dépasse pas 1 à 3 p. 100, comme l'ont établi Gourwitch et ses collaborateurs. La différence de 20 à 80 p. 100 observée dans le nombre des mitoses des deux moitiés de la racine exposée (détecteur) doit donc être entièrement attribuée à la présence de la seconde racine (inducteur). Cette seconde racine (horizontale) doit donc être considérée comme source du rayonnement mitogénétique spécifique faisant accroître le nombre des mitoses dans les tissus exposés de la racine verticale.

Gourwitch et son disciple Frank déterminèrent ensuite d'une façon plus précise la nature de la radiation mitogénétique. Ils en mesurèrent la longueur d'onde (2.000 Angströms) et établirent l'identité des rayons mitogénétiques avec les rayons ultraviolets du spectre. Depuis, il a été constaté que non seulement la racine jeune en voie de croissance est capable d'émettre un rayonnement mitogénétique, mais que des cultures fraîches de levures et de bactéries, le sang hémolysé, aussi bien que le sang en circulation dans les vaisseaux, le vitellus des œufs méroblastiques, la plaque médullaire et l'encéphale des jeunes têtards, la cornée de la grenouille, du rat et du pigeon, les tissus cancéreux des souris et des rats, aussi bien que le mélanosarcome humain, et surtout le cœur en contraction rythmique et les muscles téтанisés de la grenouille doivent être également considérés comme sources d'un rayonnement mitogénétique plus ou moins puissant.

Gourwitch et son disciple Baron ont utilisé comme détecteurs non seulement le méristème de la racine d'oignon, mais encore les levures. Les cultures de levures exposées aux sources de rayonnement énumérées plus haut montrent, par rapport aux cultures témoins non exposées, un excès de cellules bourgeonnantes. Les expériences de Baron ont démontré que le nombre des cellules bourgeonnantes est de 22,1 à 36 p. 100 dans les cultures exposées à l'induction mitogénétique et seulement de 8 à 36 p. 100 dans les cultures témoins (cultures de neuf à quinze heures).

Des expériences de même sens ont été faites par Reiter et Gabor, J. et M. Magrou, Siebert, Wagner, C. Maxia; ces auteurs ont confirmé dans l'ensemble les résultats de Gourwitch. Par contre, Guttenberg, Schwarz, Rossman, qui n'ont pu confirmer les résultats de Gourwitch, considèrent la méthode de calcul des mitoses comme trop subjective et rejettent la théorie des rayonnements mitogénétiques. D'après Guttenberg, il est très difficile de fixer d'une manière objective et précise le moment où la mitose commence et celui où elle finit. De plus, il est impossible, selon lui, de distinguer de façon précise, dans le méristème de la racine d'oignon, le stade initial de la prophase de l'état de repos du noyau. La numération des mitoses exige toujours un grand effort d'attention.

Schwarz croit, comme Gourwitch, que le calcul des mitoses peut se faire avec un degré suffisant d'exactitude, mais il n'a pu, en employant comme inducteur une pointe de racine, confirmer les résultats de ce dernier. Toutefois, il convient de noter que la technique de l'expérience est des plus délicates, et que la moindre erreur dans l'orientation des axes des racines peut entièrement fausser les résultats.

Il était désirable de trouver un mode d'expérimentation moins délicat. L'emploi des levures comme détecteur nous paraît préférable. Il peut cependant comporter certaines erreurs dans le dénombrement des bourgeons. Les bactéries constituent, à notre avis, un meilleur détecteur que le méristème de la racine d'oignon et les levures, car il est facile, par les méthodes habituelles de la bactériologie, de les dénombrer avec exactitude.

Pour mesurer l'influence du rayonnement mitogénétique sur l'accélération de la division cellulaire chez les bactéries, nous avons employé successivement, comme inducteurs, une culture fraîche de levures (*Nadsonia*), un cœur en contraction rythmique, des muscles téтанisés et de la rate de grenouille.

## II. — TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE.

INDUCTEUR. — Nous avons employé comme inducteur, c'est-à-dire comme source d'énergie mitogénétique, une culture de levure (*Nadsonia*), mise à notre disposition par M. Gourwitch. Ces levures croissent rapidement à la température de 16 à 20°, ce qui convient parfaitement aux expériences mitogénétiques. Elles ont étéensemencées sur des petites plaques de gélose maltée (28 millimètres de diamètre) de telle sorte que la mince pellicule qu'elles forment en se développant soit également répartie sur toute la surface de la gélose. Nous n'avons utilisé que des cultures fraîches de six à dix heures.

DÉTECTEUR. — Quatre espèces de bactéries cultivées en bouillon et âgées de six à quinze heures (*Bac. mesentericus fuscus*, *Bac. megatherium*, *Bac. lactis aerogenes* et *Bact. pyocyaneum*) nous ont servi de détecteurs.

DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL. — *Chambres expérimentales.* — Nous devons à l'obligeance du professeur Gourwitch les chambres expérimentales que nous avons utilisées pour nos essais mitogénétiques. Ces chambres sont de deux sortes : la première, avec laquelle nous avons effectué toutes les expériences d'induction des bactéries par les levures, est une petite boîte de verre (4 centimètres de long sur 2 cent. 5 de large et 3 centimètres de haut) divisée en deux parties par une cloison de verre. Le fond de cette boîte est formé par une lame de quartz cristallin parfaitement pénétrable aux rayons mitogénétiques. Dans la partie de droite de la chambre expérimentale, qui contient la portion de la culture bactérienne exposée à l'action des rayons mitogénétiques, la lame de quartz reste à découvert; dans la partie de gauche, qui sert de témoin, la lame est recouverte de papier de plomb imperméable aux rayons mitogénétiques. Dans toutes nos autres expériences, nous avons remplacé cette double chambre par deux chambres séparées, plus grandes (5 centimètres de long sur 2 centimètres de large et 2 cent. 5 de haut), l'une servant pour l'expérience, l'autre pour le témoin. Le fond de la chambre expérimentale est en quartz cristallin, celui de la chambre témoin en verre ordinaire (quatre lamelles de verre collées avec du mastic de Mendeleieff).

Malheureusement, tous ces récipients n'ont pu être stérilisés par la chaleur et nous dûmes nous borner à les laver avant chaque expérience, avec de l'eau distillée stérile. En outre, ces boîtes étant découvertes, les contaminations par le milieu extérieur étaient inévitables, mais cela existait aussi bien pour les lots exposés et pour les lots témoins; de plus, la durée de l'expérience ne dépassant pas trois heures, nous ne croyons pas que les microbes extérieurs, qui pouvaient se développer en un temps si réduit, aient pu modifier les résultats numériques finaux.

L'expérience se fait de la façon suivante. On secoue longuement l'éprouvette renfermant la suspension bactérienne, après quoi on prélève deux échantillons de cette culture pour déterminer, avant que l'induction ait commencé, le nombre de microbes contenus dans 1 cent. cube. Immédiatement après, on dépose, à l'aide d'une pipette graduée, une quantité égale de cette culture dans les deux parties de la chambre expérimentale.



tales. Plus la quantité de liquide est grande, plus la numération des bactéries est exacte (nous employons de 1 à 2 cent. cubes de suspension). La chambre expérimentale est ensuite posée sur une petite boîte de Petri contenant la culture fraîche de *Nadsonia* (fig. 4) [la distance entre les levures et la lame de quartz est de 13 millimètres]. Les rayons mitogénétiques doivent donc traverser la lame de quartz et être interceptés par le fond de quartz doublé de papier de plomb. La durée de l'expé-

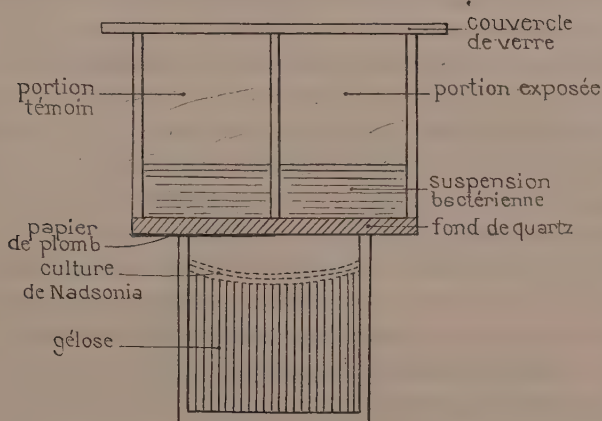


FIG. 4. — Irradiation des bactéries par des levures.

rience varie de deux heures à trois heures trente. Si l'action mitogénétique se produit, le nombre total des bactéries doit être plus grand dans la partie exposée que dans la partie témoin.

**EVALUATION DU NOMBRE DES BACTÉRIES.** — Le point délicat de nos expériences est le procédé de numération des bactéries. Après avoir essayé différentes méthodes de calcul généralement admises dans la pratique bactériologique, nous nous sommes arrêtée à deux méthodes nouvelles de calcul direct, spécialement établies pour la numération des microbes dans le lait. L'une de ces méthodes est due à R. Breed (1911) et l'autre à Koroleff (1927). Une très petite dose de la suspension bactérienne à examiner, représentant exactement le contenu d'une anse de platine standardisée (dans notre cas le contenu de cette anse était de 0 gr. 01), est soigneusement étendue en couche

uniforme sur une surface de 4 cent. carrés délimitée à l'aide d'un diamant sur une lame ordinaire. La préparation est aussitôt séchée, fixée et colorée par le bleu de méthylène (la coloration des bactéries facilite beaucoup la numération).

On compte les bactéries dans un nombre de champs visuels déterminé (quelquefois dans vingt champs, plus souvent dans quarante). On calcule la moyenne arithmétique des bactéries dans un champ visuel. On multiplie ensuite le nombre obtenu par un coefficient déterminé (1.760.000 pour l'objectif à immersion de Zeiss, oculaire n° 3, tube élevé à la division 146), ce qui donne le nombre total des bactéries sur le carré du frottis en question, c'est-à-dire le nombre total des bactéries contenues dans l'anse de platine standardisée. Le contenu de l'anse, étant égal à 0 gr. 01, on obtient facilement le nombre des bactéries contenues dans 1 cent. cube de culture étudiée.

Dans notre numération, tout cas tant soit peu douteux a été rejeté. Chaque bactérie en voie de division nette a été comptée pour deux. Dans nos 19 premières expériences nous avons compté deux échantillons de la culture à examiner, nous en avons compté quatre dans les quatre dernières expériences.

Pour obtenir une numération exacte des bactéries, il est essentiel d'avoir une suspension bactérienne uniforme. A cet effet, nous agitions fortement le bouillon de culture avant de le répartir dans les chambres expérimentales.

Avant de charger l'anse de platine nous remuons la culture avec une baguette de verre flambée. Nous employons chaque fois une anse entièrement pleine, c'est-à-dire chargée de telle sorte que les deux surfaces du liquide soient nettement convexes.

Enfin, pour obtenir un frottis d'épaisseur égale, il faut avoir une lame parfaitement dégraissée. De plus, les préparations colorées doivent être lavées avec très peu d'eau et l'excès du liquide doit être éliminé chaque fois avec du papier filtre.

La méthode de Koroleff est basée sur l'emploi d'une suspension de levures (*Schizosaccharomyces*) préparée de telle sorte que 1 cent. cube contienne 10.000.000 de cellules. Pour préparer et pour vérifier le nombre des cellules de levures dans 1 cent. cube, on emploie la chambre de calcul de Zeiss. Les levures sont tuées et on y ajoute 3 p. 100 de phénol ou de sublimé pour maintenir la solution aseptique.

Le calcul des bactéries s'effectue de la manière suivante : on mélange 1 cent. cube de la suspension en question, avec 1 cent. cube de la culture fraîche de bactéries en bouillon, dans une éprouvette stérilisée. On secoue énergiquement et on prélève à l'aide de l'anse de platine la quantité nécessaire à la préparation d'un frottis. Contrairement à la méthode de Breed, la grosseur de la goutte et l'épaisseur du frottis n'ont pas beaucoup d'importance ; la préparation est alors fixée et colorée au bleu de méthylène. On compte séparément les cellules de levures et les bactéries dans 20 ou 30 champs visuels, on additionne séparément le total des levures et celui des bactéries. Le quotient obtenu en divisant la somme des bactéries par la somme des levures est multiplié par 10.000.000 (coefficient de la suspension titrée). Nous obtenons ainsi le nombre des bactéries contenues dans 1 cent. cube de la culture envisagée.

Je me suis servie dans mes expériences d'une suspension aimablement envoyée par M. Koroleff ; je suis heureuse de lui exprimer toute ma reconnaissance.

Nous notons toutefois que, malgré toutes les précautions prises pour uniformiser les suspensions bactériennes, nous n'avons pas pu obtenir une égalité absolue. De sorte que deux ou quatre échantillons d'une même culture ne nous donnent pas exactement les mêmes chiffres, quoique très souvent ils coïncident à peu près. Nous considérons donc comme résultat final, non pas le calcul d'un seul échantillon, mais la moyenne des calculs de deux et, dans les expériences n<sup>os</sup> 14, 15, 23 et 24, de quatre échantillons prélevés simultanément sur une même culture bactérienne.

Le tableau I donne les résultats de l'induction mitogénétique du *B. mesentericus fuscus*, du *B. lactis aerogenes*, du *Bact. pyocyaneum* et du *B. megatherium* par les levures *Nadsonia*.

De ces expériences il ressort que les bactéries exposées à l'induction mitogénétique se multiplient beaucoup plus rapidement que les bactéries témoins.

Dans le tableau n<sup>o</sup> I, nous voyons en effet que, dans 18 cas sur 24, on peut observer une influence positive plus ou moins prononcée de la radiation mitogénétique des levures en voie de croissance sur la multiplication des bactéries étudiées. Calculée pour 1 cent. cube de suspension bactérienne, la différence

TABLEAU I. — Induction mitogénétique du *Bac. mesentericus fuscus*, *Bac. lactis aerogenes*, *Bac. pyocyaneum* et *Bac. megatherium* par les levures *Nadsonia*.

NUMÉRO des expériences	ÂGE DES CULTURES	QUANTITÉ de suspension employée en cent. cubes	DURÉE d'induction mitogénétique en heures	NOMBRE de bactéries dans 1 cent. cube de suspension bactérienne avant l'induction	NOMBRE de bactéries dans 1 cent. cube de portion exposée	NOMBRE de bactéries dans 1 cent. cube de portion témoin	DIFFÉRENCE
1. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 9 h. 30. <i>Nadsonia</i> : 9 h. 30.	2	2,30	528.000	8 976 000	7 920.000	+ 1.056.000
2. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 7 heures. <i>Nadsonia</i> : 7 heures.	2	3,30	1 584.000	13 552.000	10.912.000	+ 2 640.000
3. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 8 h. 45. <i>Nadsonia</i> : 7 h. 45.	2	3	—	15 436.000	10.560 000	+ 4.576.000
4. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 7 h. 45. <i>Nadsonia</i> : 7 h. 45.	1	3	4.048.000	16.016.000	12.496.000	+ 3.520.000
5. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 9 h. 30. <i>Nadsonia</i> : 7 h. 30.	4	2,30	2 464.000	10.736.000	11.616.000	— 880.000
6. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 8 heures. <i>Nadsonia</i> : 8 heures.	4	3	880.000	3.696.000	4.672.000	+ 2 024.000
7. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 8 h. 30. <i>Nadsonia</i> : 8 h. 30.	1	3	3.168.000	18 292.000	11.440.000	+ 6.852.000
8. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 9 h. 18. <i>Nadsonia</i> : 9 h. 45.	1	2	8.096.000	21 564.000	22.968.000	— 1 408.000
9. . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 10 heures. <i>Nadsonia</i> : 7 h. 20.	1	2,30	4 312.000	9.944.000	7.920.000	+ 2.024.000



12. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 9 h. Nadsonia : 6 h. 30.		3	2.461.000	16 981 000	13.552.000	+ 3.432.000
13. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 7 heures. Nadsonia : 7 heures.	2	2,45	1.232.000	11.701.000	9 416.000	+ 2.288.000
14. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 8 h. 15. Nadsonia : 7 h. 15.	2	2,45	3.132.000	13.024.000	10 912.000	+ 2.112.000
15. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 10 h. 15. Nadsonia : 10 heures.	1	2,45	141 152 000	153 821.000	142 381 000	+ 11.440.000
16. . . . .	<i>Bac. pyocyaneus</i> : 7 heures. Nadsonia : 7 heures.	1	3,15	9.501 000	41.980 000	28.336.000	+ 13.652.000
17. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 8 h. 30. Nadsonia : 8 heures.	1	3	5.618 000	27.016.000	23 760.000	+ 3.256 000
18. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 12 heures. Nadsonia : 12 heures.	1	3	20.630.000	72.160.000	49.104.000	+ 23.056.000
19. . . . .	<i>Bac. pyocyaneus</i> : 7 h. 15. Nadsonia : 7 h. 15.	1	3	5 984.000	11.224.000	14.520.000	- 3.256.000
20. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 6 h. 45. Nadsonia : 6 h. 45.	1	3	1.936 000	11.352.000	13.024.000	- 1.672.000
21. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 6 h. 30. Nadsonia : 6 h. 30.	2	2	1.936 000	3 608.000	2.464.000	- 1.144.000
22. . . . .	<i>Bac. lactis aerogenes</i> : 8 h. 30. Nadsonia : 8 heures.	2	3,15	4.136 000	12 581.000	11 701.000	+ 880.000
23. . . . .	<i>Bac. megathierum</i> : 16 heures. Nadsonia : 10 heures.	1	3	10.472 000	12 584.000	11 264 000	+ 1.320.000
24. . . . .	<i>Bac. megathierum</i> : 9 h. 15. Nadsonia : 7 heures.	1	3	1.760.000	2.112.000	2.112.000	± 0

entre les nombres totaux de bactéries contenues dans les deux portions, exposée et témoin, des cultures examinées, varie entre 880.000 et 23.056.000.

Il ne semble pas que la durée de l'exposition et l'âge des

TABLEAU II. — **Vitesse de division cellulaire du *Bac. mesentericus fuscus*, du *Bact. lactis aerogenes*, du *Bact. pyocyaneum* et du *Bac. megatherium* dans les portions exposées et dans les portions témoins des suspensions bactériennes irradiées par les levures *Nadsonia*.**

NUMÉRO des expériences.	PORTION EXPOSÉE	PORTION TÉMOIN	DURÉE de l'induction mitogénétique en heures
1 . . . . .	17,0	15,0	2,30
2 . . . . .	8,55	6,88	3,30
3 . . . . .	—	—	3
4 . . . . .	3,95	3,08	3
5 . . . . .	4,39	4,70	2,30
6 . . . . .	4,2	1,9	3
7 . . . . .	5,77	3,64	3
8 . . . . .	2,66	2,84	2
9 . . . . .	2,3	1,83	2,30
10 . . . . .	9,8	8,0	3
11 . . . . .	3,82	4,34	3
12 . . . . .	6,89	5,5	3
13 . . . . .	9,5	7,6	2,45
14 . . . . .	3,79	3,1	2,45
15 . . . . .	1,09	1,008	2,45
16 . . . . .	4,41	2,98	3,15
17 . . . . .	4,80	4,20	3
18 . . . . .	3,48	2,37	3
19 . . . . .	1,88	2,42	3
20 . . . . .	5,86	6,72	3
21 . . . . .	1,86	1,27	2
22 . . . . .	3,04	2,82	3,15
23 . . . . .	1,2	1,07	3
24 . . . . .	1,2	1,2	3
Données moyennes .	4,83	4,10	2,42

levures et des bactéries agissent d'une manière sensible sur les résultats obtenus.

Le tableau II nous montre très distinctement de combien de fois, pendant la durée de chaque expérience, s'est accrue chaque portion de culture des quatre espèces bactériennes étudiées. De plus, nous voyons tout de suite que les cultures étudiées sont loin d'être égales quant à la rapidité de leur multiplication. Le rythme de la croissance des cultures bactériennes est soumis à des variations individuelles considérables. Par exemple, la culture n° 1 s'est accrue 20,1 fois en deux

heures trente et la culture témoin 18 fois, tandis que dans le même temps la culture n° 9 ne s'est accrue que 2,3 fois pour la portion exposée et 1,8 fois pour la portion témoin. Ce fait bizarre ne dépend pas ici de la quantité initiale des bactéries dans les cultures, car dans les expériences n°s 6 et 10, où nous avons eu parfois la même quantité initiale de bactéries dans les

TABLEAU III. — Effet de l'induction mitogénétique exprimé en pourcentage.

NUMÉRO des expériences	EFFET mitogénétique p. 100	OBSERVATIONS
1 . . . . .	+ 13,3	L'effet moyen positif (calculé sur 18 expériences positives) : + 32,58 p. 100. L'effet moyen négatif (calculé sur 6 expériences négatives) : — 10,13 p. 100 L'effet moyen de l'induction mitogénétique (calculé sur 24 expériences) : + 21,9 p. 100.
2 . . . . .	+ 24,2	
3 . . . . .	+ 43,3	
4 . . . . .	+ 28,1	
5 . . . . .	+ 7,5	
6 . . . . .	+ 121,1	
7 . . . . .	+ 59,8	
8 . . . . .	— 6,1	
9 . . . . .	+ 25,5	
10 . . . . .	+ 20	
11 . . . . .	— 12	
12 . . . . .	+ 25,3	
13 . . . . .	+ 24,29	
14 . . . . .	+ 19,3	
15 . . . . .	+ 8	
16 . . . . .	+ 48,15	
17 . . . . .	+ 13,7	
18 . . . . .	+ 46,9	
19 . . . . .	— 22,4	
20 . . . . .	— 12,8	
21 . . . . .	+ 46,4	
22 . . . . .	+ 7,5	
23 . . . . .	+ 11,7	
24 . . . . .	+ 0	

deux cas (880.000 microbes pour 1 cent. cube), nous observons dans 1 cas (n° 10) une croissance beaucoup plus rapide que dans l'autre (n° 6).

Considérant les cultures n°s 10 et 13, caractérisées par le même rythme de croissance, au moins en ce qui concerne leurs portions exposées, nous voyons que les quantités initiales des bactéries sont assez proches dans les deux cas.

La vitesse de multiplication des bactéries ne dépendant ni de la durée de l'induction, ni de l'âge des bactéries et des levures, ni de la quantité initiale des bactériesensemencées,

nous sommes amenée à croire que le seul facteur qui agisse d'une manière plus ou moins constante sur cette vitesse est un inducteur biologique représenté ici par une culture fraîche de levures. En effet, si nous considérons les données du tableau II, nous voyons que la durée moyenne de l'induction mitogénétique est de deux heures quarante-deux; pendant ce temps, la population bactérienne du lot exposé deviendra en moyenne 4,83 fois plus dense, tandis que celle du lot témoin ne deviendra que 4,10 fois plus grande, toutes les autres conditions expérimentales étant absolument les mêmes. Nous sommes donc obligés d'admettre que la différence observée dans le rythme de la division cellulaire est due à la présence des levures en voie de croissance.

D'après ce tableau, l'effet positif de l'induction mitogénétique est très variable, il atteint parfois les chiffres impressionnants de + 48,1 p. 100 (expérience n° 16), de + 46,9 p. 100 et de 46,3 p. 100 dans les expériences nos 18 et 21, de + 59,8 p. 100 dans l'expérience n° 7 et de + 121,1 p. 100 dans l'expérience n° 6. Dans d'autres cas il est très peu sensible. Mais, si nous prenons la moyenne de l'effet mitogénétique positif, calculée sur 18 expériences positives, nous arrivons au chiffre imposant de + 32,58 p. 100.

Si nous considérons les expériences négatives (nos 5, 8, 11, 19, 20, 24), où les bactéries se sont multipliées plus rapidement dans les lots témoins que dans les lots exposés, le résultat négatif moyen est généralement très faible, en moyenne, 10,13 p. 100. Par conséquent, retranchant du résultat positif moyen le résultat des 6 expériences négatives, nous obtenons un effet mitogénétique moyen (pour les 24 expériences) de + 21,9 p. 100.

Nous concluons donc que la présence d'une culture de *Nadsonia* en voie de croissance agit sur des cultures fraîches de *mesentericus fuscus*, *Bac. megatherium*, *Bac. lactis aerogenes* et *Bact. pyocyaneum* en y accélérant la division cellulaire.

On peut cependant nous objecter que nous n'avons pas suffisamment tenu compte des fluctuations individuelles dans le rythme de la croissance des différentes cultures étudiées. Des essais complémentaires de contrôle ne nous laissent aucun doute sur la valeur de nos résultats. Nous avons d'abord doublé



TABLEAU IV. — Contrôle. Croissance des cultures bactériennes non exposées à l'influence de la radiation mitogénétique.

NUMÉRO des expériences	ÂGE DES CULTURES	QUANTITÉ de suspension bactérienne employée en cent cubes	DURÉE de l'expérience en heures	NOMBRE de bactéries dans 1 cent. cube de suspension bactérienne avant l'expérience	NOMBRE de bactéries dans 1 cent. cube de suspension correspondant à la portion exposée de la culture	NOMBRE de bactéries dans 1 cent. cube de portion de la suspension correspondant à la portion témoin de la culture	DIFFÉRENCE	EFFET des variations individuelles p 100
1 . . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 6 h. 15.	2	2,45	352.000	3.872.000	4.048.000	— 176.000	— 4,3
2 . . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 9 heures.	2	2	3.872.000	4.840.000	4.664.000	+ 176.000	+ 3,7
3 . . . . .	<i>Bact. lactis aerogenes</i> : 8 heures.	1	3	14.616.000	34.848.000	35.904.000	+ 1.056.000	— 2,9
4 . . . . .	<i>Bac. mesentericus fuscus</i> : 10 heures.	2	3	5.984.000	43.200.000	41.264.000	+ 1.936.000	+ 47,1
5 . . . . .	<i>Bact. lactis aerogenes</i> : 8 heures.	2	2,45	5.632.000	6.512.000	7.744.000	+ 1.232.000	— 13,9

dans toutes les expériences ultérieures la quantité des échantillons examinés au microscope. Nous avons surtout, répété 3 fois l'expérience fondamentale de l'induction mitogénétique en éliminant, bien entendu, le facteur inductif. A l'exception des levures, le dispositif expérimental était exactement le même. Après avoir déterminé le nombre des microbes dans 1 cent. cube de la culture initiale, nous avons transvasé dans chaque moitié de la chambre expérimentale 2 cent. cubes de la suspension bactérienne étudiée.

Après un laps de temps égal à la durée moyenne de l'induction mitogénétique, nous avons dénombré les bactéries dans les

TABLEAU V. — Vitesse de multiplication du *Bac. mesentericus fuscus* et du *Bact. lactis aerogenes* dans les portions correspondant aux portions exposées et aux portions témoins de ces cultures.

NUMÉRO des expériences	PORTION correspondant à la portion exposée de la culture examinée	PORTION correspondant à la portion témoin de la culture examinée	DURÉE de l'induction en heures
1. . . . .	41	41,50	2,45
2. . . . .	1,250	1,204	2
3. . . . .	3	3,09	3
4. . . . .	2,2	1,88	3
5. . . . .	1,15	1,37	2,45
Données moyennes..	3,72	3,80	2,40

deux portions de la culture. Les résultats de ces calculs sont exprimés dans les tableaux IV et V.

Nous voyons d'abord que les fluctuations numériques ont également lieu dans les deux portions de cultures bactériennes examinées en l'absence de l'inducteur biologique; mais, ces fluctuations individuelles, tantôt très faibles comme dans les trois premières expériences, tantôt plus fortes dans les deux dernières, s'équilibrent finalement.

Dans l'expérience n° 1 nous observons un excédent de 176.000 bactéries dans le lot correspondant au lot témoin. Dans l'expérience n° 2 nous trouvons le même excédent (+ 176.000) dans le lot correspondant au lot traité. Dans l'expérience n° 4 nous trouvons encore un excédent de 1.936.000 d'un côté et

dans l'expérience n° 5 un excédent de 1.232.000 du côté opposé. En calculant la moyenne de ces variations individuelles, nous voyons qu'elle représente la quantité négligeable de 0,46 p. 100.

Si nous considérons les nombres initiaux des microbes contenus dans 1 cent. cube des cultures examinées, et si nous calculons combien de fois s'est accrue la population bactérienne pendant la durée moyenne de l'expérience dans chaque portion de culture, nous verrons que, contrairement à ce que nous avons observé avec les cultures induites, la croissance de la culture ordinaire s'effectue en général assez uniformément dans les deux moitiés de la chambre expérimentale. En admettant pour l'expérience une durée moyenne de deux heures quarante, on constate que pendant ce temps la population de la portion de culture correspondant à la portion exposée est devenue en moyenne 3,72 fois plus dense, tandis que la population de la portion de culture correspondant à la portion témoin est devenue en moyenne 3,80 fois plus nombreuse. La différence entre ces données et celles du tableau II est frappante.

Nous pouvons donc conclure de ces expériences que :

1° Les levures *Nadsonia* fraîchementensemencées émettent un rayonnement mitogénétique capable d'influencer positivement le pouvoir de la division cellulaire des quatre espèces de bactéries étudiées, *Bac. mesentericus fuscus*, *Bac. lactis aerogenes*, *Bact. pyocyaneum* et *Bac. megatherium*.

2° Dans 18 cas sur 24, la présence de cet inducteur biologique a augmenté de 32,58 p. 100 le nombre des microbes dans les cultures soumises à son action.

3° Dans 1 cas sur 24, l'influence mitogénétique des *Nadsonia* sur les bactéries ci-dessus mentionnées fut nulle. Dans 5 cas, l'effet mitogénétique fut négatif et égal en moyenne à — 10,13 p. 100.

4° L'effet des fluctuations individuelles, observées dans le développement des cultures bactériennes normales, non soumises à l'action du rayonnement mitogénétique, est égal en moyenne à 0,46 p. 100.

5° La durée de l'exposition (deux heures trente et trois heures trente) et l'âge des levures et des bactéries (six heures

et seize heures), dans les limites étroites dans lesquelles ces données ont varié, n'influencent pas d'une manière sensible la grandeur de l'effet mitogénétique obtenu.

### III. — INDUCTION MITOGÉNÉTIQUE DU *B. megatherium*

PAR LES MUSCLES TÉTANISÉS DE GRENOUILLE.

Lorsqu'on fait passer un courant intermittent alternatif à travers un muscle préparé, celui-ci passe à l'état de contraction prolongée ou de tétanos. En cet état, comme l'a montré Frank, le muscle émet un rayonnement mitogénétique intense dû, selon Gourwitch et Frank 2, 3, à la décomposition anaérobie du glycogène en acide lactique qui se produit au cours de la contraction. D'après les expériences de Frank, l'effet mitogénétique moyen est de 46 p. 100 sur les cultures de levures et de 22 p. 100 sur le méristème de la racine d'oignon.

INDUCTEUR. — Nous avons utilisé comme inducteur, dans cette série d'expériences, les muscles du train postérieur de la grenouille fraîchement préparés : le muscle sartorius dans 8 cas et le muscle triceps dans 1 cas. Le muscle sartorius paraît mieux convenir pour ces expériences, car sa membrane est plus mince et par conséquent plus perméable aux rayons mitogénétiques émis pendant la contraction. En séparant les muscles, on doit éviter de les toucher avec les instruments, on conservera donc les tendons et même l'articulation du genou auquel ces muscles sont attachés. De plus, afin d'éviter leur dessiccation pendant la préparation et au cours des expériences, ils seront constamment humectés avec de l'eau physiologique.

Nous avons toujours utilisé dans nos expériences la même quantité de matière inductrice. Dans 2 cas, nous avons pris un seul *sartorius*; dans 1 cas, 1 *triceps*; dans 2 cas, 2 *sartorius* et dans 3 cas, 4 *sartorius*.

DÉTECTEUR. — Comme détecteur, nous nous sommes servi exclusivement d'une seule espèce bactérienne : le *Bac. megatherium*, cultivé dans du bouillon. Les cultures étaient un peu plus âgées que dans les expériences précédentes (quinze à vingt-quatre heures). Dans 4 cas nous avons mis dans la chambre



expérimentale 1 cent. cube de culture, et dans 5 autres cas, 2 cent. cubes. La même quantité de suspension bactérienne était toujours placée dans la chambre témoin.

#### DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL. —

Dans ces expériences, nous nous sommes toujours servie de deux chambres distinctes : chambre expérimentale avec un fond de quartz cristallin, et chambre témoin en verre ordinaire. La chambre expérimentale contenant la suspension bactérienne de *Bac. megatherium* est placée sur deux baguettes de verre parallèles. Les muscles de grenouille étirés sont fixés par de petits crochets sous le fond de la chambre, entre les baguettes de verre. La culture exposée est toujours préalablement soigneusement agitée et les bactéries dénombrées. Les petits crochets, comme le montre la figure 2, sont réunis par un fil conducteur avec la bobine de Ruhmkorff. Quand le courant est établi, les muscles se contractent violemment et passent à l'état de téтанos. Les rayons inducteurs sont dirigés, comme dans les expériences effectuées avec la *Nadsonia*, de bas en haut. La distance entre le fond de la chambre expérimentale et la surface du muscle ne dépasse

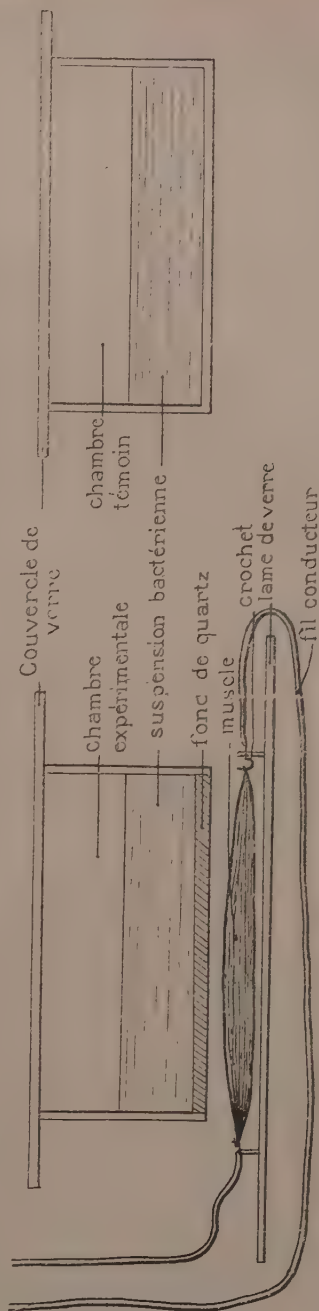


FIG. 2. — Irradiation du *B. megatherium* par un muscle téтанisé de grenouille.

pas 1 à 1 cm. 5. Toutefois, cette distance diminue encore lorsque les muscles passent à l'état tétanique, et elle s'accroît dans les courts moments de repos, entre deux contractions prolongées. Il arrive quelquefois que le muscle se détend soudainement au cours de l'expérience et cesse de réagir à l'excitation du courant électrique. Pour y remédier, il faut fermer et ouvrir à nouveau le courant et, si l'état tétanique ne se reproduit pas, il faut interrompre l'expérience. Ici, le *Bac. megatherium* a été exposé à l'action des muscles tétanisés pendant très peu de temps : une minute dans l'expérience 1, deux minutes dans les expériences 2 et 3, deux minutes et demie dans l'expérience 4 et trois minutes dans les expériences 5, 6 et 7. Il faudrait encore soustraire à ces temps de pose les quelques instants de la détente musculaire et ceux qui ont été perdus pendant l'interruption et le rétablissement du courant.

L'induction terminée, la portion exposée de la culture bactérienne aussi bien que la portion témoin sont transvasées dans des éprouvettes stériles et mises à l'étuve à 22-27° pendant deux à six heures.

On procède ensuite à la préparation des frottis et à la numération des bactéries dans les deux portions de la culture.

Pour la numération des bactéries, nous avons employé la méthode de Breed pour les expériences 2, 3, 4, 5 et 6 et celle de Koroleff pour les expériences 1 et 7 et les expériences témoins 8 et 9.

Pour avoir des résultats plus précis, en comptant les bactéries d'après la méthode de Breed, nous avons prélevé dans chaque portion de culture quatre échantillons. Les résultats définitifs d'après lesquels nous avons établi l'effet mitogénétique pour chacune des expériences représentent la moyenne arithmétique de 4 calculs parallèles.

De plus, nous avons employé deux gouttes de culture en bouillon pour la préparation de frottis d'après la méthode de Koroleff, nous avons ainsi doublé la quantité de culture examinée.

Pour vérifier les calculs, tous les frottis des expériences 2 et 3 ont été comptés à des moments différents par deux calculateurs, l'auteur du présent article et M<sup>lle</sup> Starigine à qui j'exprime ma profonde reconnaissance.

TABLEAU VI. — Induction mitogénétique du *Bac. megatherium* par les muscles téтанisés de grenouille.

NUMÉRO DES EXPÉRIENCES	ÂGE DE LA CULTURE	INDUCTEUR	QUANTITÉ DE SUSPENSION bactérienne employée en cent. cubes	DURÉE DE L'INDUCTION en minutes	DURÉE DE LA PÉRIODE post-inductive en heures	NOMBRE DE BACTÉRIES dans 1 cent. cube avant l'induction	NOMBRE DE BACTÉRIES dans 1 cent. cube	NOMBRE DE BACTÉRIES dans 1 cent. cube de portion témoin	DIFFÉRENCE	EFFET mitogénétique (1) p. 100
1	<i>Bac. megatherium</i> : 15 heures à 23° C.	Quatre <i>M. M. sartorii</i> ○.	1	1	6,30 à 23° C.	958.000	30.400.000	21.700.000	+ 8.700.000	+ 40,09
2	<i>Bac. megatherium</i> : 24 heures à 21° C.	Un <i>M. sartorius</i> .	2	2	2 à 25° C.	3.480.000	36.246.000	16.314.000	+ 49.932.000	+ 122,4
3	<i>Bac. megatherium</i> : 19 heures à 21° C.	Un <i>M. sartorius</i> .	2	2	2 à 23° C.	2.923.000	22.454.000	13.316.000	+ 9.138.000	+ 68,6
4	<i>Bac. megatherium</i> : 21 h. 30 à 22° C.	Un <i>M. triceps</i> .	2	2	2,30 à 26° C.	6.688.000	33.476.000	21.824.000	+ 11.652.000	+ 52
5	<i>Bac. megatherium</i> : 16 heures à 22° C.	Deux <i>M. M. sartorii</i> .	2	3	2 à 27° C.	9.152.000	35.376.000	14.344.000	+ 21.032.000	+ 146,6
6	<i>Bac. megatherium</i> : 17 h. 30 à 21° C.	Quatre <i>M. M. sartorii</i> .	2	3	2 à 23° C.	2.640.000	20.416.000	11.528.000	+ 8.888.000	+ 77
7	<i>Bac. megatherium</i> : 15 heures à 23° C.	Quatre <i>M. M. sartorii</i> ●.	1	3	6,30 à 25° C.	2.418.000	40.790.000	31.050.000	+ 9.740.000	+ 31,36
8	<i>Bac. megatherium</i> : 15 heures à 23° C.	Quatre <i>M. M. sartorii</i> luis ○.	1	1	6,30 à 25° C.	958.000	21.090.000	21.325.000	— 235.000	— 1,4
9	<i>Bac. megatherium</i> : 15 heures à 23° C.	Quatre <i>M. M. sartorii</i> luis ●.	1	3	6,30 à 25° C.	2.428.000	28.800.000	29.970.000	— 1.170.000	— 3,90

N. B. — Les expériences faites avec les mêmes muscles sont marquées par les mêmes signes : ○ ○ ; ● ● ; ● ●.

(1) L'effet mitogénétique moyen = 76,82 p. 100.

Les résultats de ces deux calculs coïncident de très près.

L'effet mitogénétique de la première et la troisième expérience, représente la moyenne arithmétique des calculs parallèles des deux compteurs. Le tableau VI donne les résultats de ces expériences.

En examinant ce tableau, nous voyons que les muscles tétanisés du train postérieur de grenouille exercent une forte action mitogénétique sur les bactéries, en stimulant leur développement dans la culture en bouillon et en accélérant la division cellulaire du *Bac. megatherium*. Contrairement à ce que nous avons observé dans nos expériences avec la *Nadsonia* sp. (où l'induction ne se manifestait pas toujours très distinctement et où, sur vingt-quatre expériences, 6 nous ont donné des résultats négatifs), l'induction se produit toujours. Dans tous les cas, sans exception, le nombre des bactéries dans la portion exposée surpasse de beaucoup celui de la portion témoin.

Dans les expériences 2 et 5, l'effet mitogénétique atteint le nombre considérable de + 122,1 p. 100 et 146,6 p. 100. Dans l'expérience 3, + 68,6 p. 100. Dans l'expérience 6, + 77 p. 100. Dans l'expérience 4, + 52 p. 100. Dans les expériences 1 et 7 cet effet fut un peu plus faible (+ 40,09 p. 100 et + 31,36 p. 100). L'effet positif moyen de l'induction dans toute cette série d'expériences est de + 76,82 p. 100. Ce chiffre dépasse de trois fois et demi celui qui correspond à l'effet mitogénétique des levures sur les bactéries (22,02 p. 100). De plus, l'influence des *M. sartorius* tétanisés sur la division cellulaire des bactéries est beaucoup plus intense que sur les levures (+ 76,82 p. 100 pour les bactéries et + 46 p. 100 pour les levures).

En comparant les deux colonnes de données numériques, nous voyons nettement comment l'influence de l'induction musculaire se manifeste par la rapidité de la multiplication du *Bac. megatherium*. Quoique la rapidité de la croissance du *Bac. megatherium* soit soumise à des fluctuations individuelles assez considérables (moins considérables, cependant, que celles observées dans les expériences sur la *Nadsonia*) dues à une série de causes encore inconnues, nous voyons que dans tous les cas, sans exception, la croissance bactérienne est beaucoup plus intense dans les lots exposés que dans les lots témoins correspondants.



Pour une durée moyenne de l'induction mitogénétique de deux minutes trente secondes et une moyenne de trois heures et demie pour la période post-inductive, la population de la portion exposée du *Bac. megatherium* s'accroît en moyenne de presque 12 fois (11,99), tandis que celle de la portion non exposée ne s'accroît que de 7,7 fois (tableau VII).

De même que dans les expériences avec la *Nadsonia*, la durée de l'exposition, dans les limites étroites (de une à trois minutes)

TABLEAU VII. — Vitesse comparée de la multiplication du *Bac. megatherium* dans les portions exposées et dans les portions témoins des cultures bactériennes irradiées par les muscles tétanisés de grenouille.

NUMÉRO des expériences	PORTION exposée	PORTION témoin	DURÉE de l'induction mitogénétique en minutes	DURÉE de la période post-inductive en heures
1 . . . . .	31,7	22,6	1	6 à 24° C.
2 . . . . .	11,39	5,1	2	2,45 à 25° C.
3 . . . . .	7,67	4,5	2	2,45 à 25° C.
4 . . . . .	4,9	3,2	2,30	2,30 à 26° C.
5 . . . . .	3,8	1,5	3	2 à 27° C.
6 . . . . .	7,7	4,3	3	4 à 22° C.
7 . . . . .	18,8	12,8	3	6,30 à 25° C.
Données moyennes. . .	11,99	7,71	2,30	3,35

où elle a varié, n'agit pas d'une façon appréciable sur les résultats de l'induction : en prolongeant l'exposition, nous n'obtenons nullement des effets positifs plus prononcés. Dans les expériences où nous avons obtenu les effets positifs les plus marqués (expériences 2 et 5) l'induction a duré dans 1 cas deux minutes et dans l'autre, trois minutes. Dans les expériences (5, 6 et 7) où l'exposition a duré le même temps (trois minutes) l'effet positif est différent dans chacun des cas : + 146, 6, + 77 et + 31, 36 p. 100. De même, l'augmentation de la matière inductrice dans les limites étroites de 1 à 4 *M. sartorius* n'accroît pas l'effet mitogénétique. Les effets positifs les plus prononcés (+ 128,1 et 146,6 p. 100) ont été obtenus en utilisant 1 ou

2 muscles, tandis que 4 muscles *M. sartorius* (expériences 1, 6 et 7) ont donné des résultats relativement moins considérables.

Dans les expériences 2 et 3, où nous avons utilisé la même quantité de matière inductrice (1 *M. sartorius*) et les mêmes temps de pose (deux minutes), l'effet mitogénétique positif dans un cas représente presque le double de ce qu'il est dans l'autre. De même dans les expériences 6 et 7, où la même quantité de substance rayonnante (4 *M. sartorius*) et les mêmes temps de pose (trois minutes) ont donné des résultats tout à fait différents. Il nous est encore impossible pour le moment d'expliquer ces discordances dans les résultats obtenus. Il se peut que notre méthode de numération des bactéries ne soit pas encore suffisamment au point. Il ne faut pas oublier que nous employons des organismes vivants qui sont loin d'être placés dans leurs conditions naturelles et optimales et que ces organismes possèdent une extrême variabilité individuelle. Toutefois, il reste hors de doute que les muscles tétanisés de grenouille possèdent le pouvoir de stimuler la division cellulaire du *Bac. megatherium* en augmentant de 76,82 p. 100 le nombre total des bactéries dans la portion exposée de cette culture.

Ces mêmes muscles à l'état de repos n'émettent aucun rayonnement mitogénétique. Frank n'a obtenu que des résultats négatifs dans les trois expériences qu'il a faites sur l'action du *M. sartorius* à l'état de repos, sur les cultures de levures : — 4,2 — 1,6 et — 5 p. 100. Ainsi la différence entre le pouvoir mitogénétique des muscles actifs et des muscles au repos se manifeste-t-elle nettement. Il reste à déterminer la nature de l'action qui agit sur ces microorganismes. Doit-on l'attribuer aux réactions chimiques qui ont lieu lors d'une contraction prolongée (décomposition du glycogène) ou à la présence du courant électrique, passant par le muscle et y provoquant cette décomposition?

Pour répondre à cette question, nous avons fait deux expériences complémentaires de vérification : l'expérience n° 8 sert de contrôle à l'expérience n° 1 et l'expérience n° 9 sert de contrôle à l'expérience n° 7. Les mêmes muscles ont été employés dans cette série d'expériences avec cette différence que les muscles employés pour les expériences de vérification avaient été préalablement soumis à l'ébullition pendant cinq minutes.

Les muscles ainsi préparés étaient fixés par de petits crochets réunis à la bobine de Rhumkorff, la chambre expérimentale contenant la culture fraîche de *B. megatherium* était placée dessus et l'expérience était conduite comme à l'ordinaire. Une fois le courant établi, l'induction dure une minute (ensuite étuve à 25° pendant six heures trente minutes) pour l'expérience n° 8. Pour l'expérience n° 9, trois minutes d'induction (étuve 25° pendant six heures trente minutes). Le résultat, dans ces deux cas, fut nul ainsi que le montre le tableau VI. L'effet mitogénétique fut — 4,1 p. 100 dans l'expérience n° 8 et — 3,90 p. 100 dans l'expérience n° 9. Ce n'est donc pas le courant électrique, mais bien le travail du muscle en contraction qui constitue la source de l'action mitogénétique des *M. sartorius* sur le *B. megatherium*.

En résumé : 1° les muscles vivants, tétanisés, de la grenouille émettent un rayonnement mitogénétique capable d'accroître considérablement le pouvoir de la division cellulaire du *B. megatherium*.

2° Les muscles tués de grenouille n'émettent pas ce rayonnement lorsqu'on y fait passer un courant électrique.

3° L'irradiation des muscles tétanisés agit avec plus de force et d'une manière plus constante sur les bactéries que n'agit le rayonnement émis par les levures *Nadsonia*.

4° L'irradiation des muscles tétanisés agit avec plus de force sur les bactéries que sur les levures, et sur les levures plus fortement que sur la racine d'oignon (Frank).

5° L'effet de l'induction mitogénétique ne croît pas avec l'augmentation de durée de l'exposition (dans les limites étroites de une à deux minutes).

6° L'effet de l'induction mitogénétique ne croît pas avec l'augmentation de la substance inductrice (dans les limites étroites de 1 à 4 *M. sartorius*).

#### IV. — INDUCTION MITOGÉNÉTIQUE DU *B. megatherium*

##### PAR LE CŒUR DE GRENOUILLE.

Nous avons étudié l'influence des muscles en état de contraction spontanée sur la vitesse de multiplication des bactéries, et nous avons choisi comme objet d'étude le cœur de grenouille.

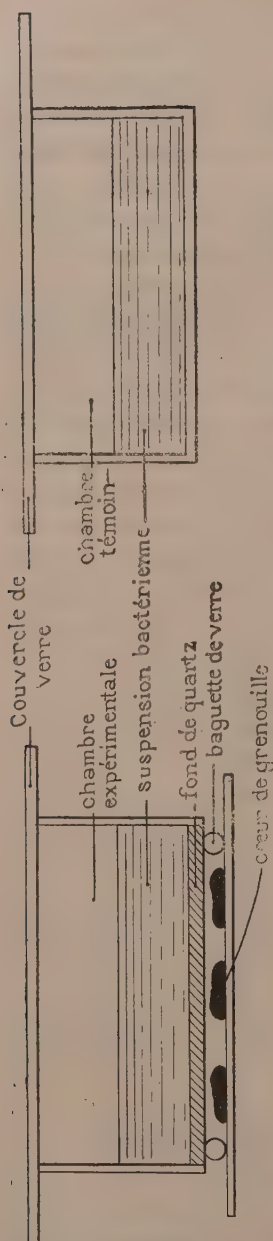


FIG. 3. — Irradiation du *B. megatherium* par le cœur.

L'intérêt de ces recherches réside dans le fait que nous n'introduisons ici aucun facteur étranger, contrairement à ce qui avait lieu dans les expériences portant sur les muscles tétanisés. Le cœur de grenouille extirpé est placé sur une lame ordinaire, où il se contracte librement.

**INDUCTEUR.** — On extirpe soigneusement le cœur d'une grenouille récemment sacrifiée et on le rince à plusieurs reprises dans l'eau physiologique pour éliminer les dernières traces de sang. Généralement le cœur commence à battre quelques secondes après l'extirpation, mais parfois il s'immobilise quelques minutes, après quoi les contractions reprennent. Si l'on a soin d'humecter de temps en temps le cœur avec de l'eau physiologique, les contractions rythmiques peuvent se poursuivre jusqu'à cinq ou six heures après l'extirpation.

La fréquence des battements diffère d'un cœur extirpé à l'autre. C'est ainsi que trois cœurs extirpés simultanément ont donné l'un 16 battements à la minute, le second et le troisième 44. Pour chaque expérience, nous avons généralement employé trois cœurs.

**DÉTECTEUR.** — Comme détecteur, nous avons employé exclusivement les cultures en bouillon de *B. megatherium*, âgées de quinze ou de vingt-deux heures. La quantité de culture directement examinée était toujours la même (2 cent.





cubes). Le dispositif expérimental comprenait deux chambres distinctes, l'une à fond de quartz cristallin, et l'autre pour le contrôle en verre ordinaire. Pour que toute la surface inférieure de la chambre expérimentale soit également exposée à l'action des rayons mitogénétiques, nous avons disposé au moins trois cœurs parallèlement au fond de la chambre expérimentale (dans l'expérience n° 9 nous avons employé quatre cœurs). Les

TABLEAU IX. — Vitesse comparée de la multiplication du *Bac. megatherium* dans les portions exposées et dans les portions témoins des cultures bactériennes irradiées par le cœur de grenouille.

NUMÉRO des expériences	PORTION exposée	PORTION témoin	DURÉE de l'induction mitogénétique en minutes	DURÉE de la période post-inductive en heures
1 . . . . .	10	9,1	1	5,15 à 18° C.
2 . . . . .	5,6	4,6	2	3,15 à 30° C.
3 . . . . .	6,07	3,16	3	3 à 27° C.
4 . . . . .	30,6	22,5	4	6 à 24° C.
5 . . . . .	4,28	3,44	6	3 à 27° C.
6 . . . . .	20,7	18,0	8	6 à 24° C.
7 . . . . .	9,7	6,8	10	4 à 27° C.
8 . . . . .	4,3	4,1	40	4 à 30° C.
9 . . . . .	2,33	2,19	20	3 à 29° C.
Données moyennes. . .	10,39	8,21	10	4,10 à 26° C.

cœurs isolés de grenouille sont placés sur une lame (fig. 3); la chambre expérimentale contenant la culture en bouillon de *B. megatherium* et soutenue par deux baguettes de verre est placée au-dessus. Les rayons mitogénétiques sont dirigés de bas en haut comme dans les expériences précédentes. La distance entre la surface supérieure des cœurs et le fond de quartz était plus petite que dans les expériences avec les muscles tétanisés et surtout plus petite que dans les expériences avec les *Nadsonia* (0 cent. 5 et parfois moins), l'effet de l'induction mitogénétique n'en fut pas augmenté.

La durée de l'exposition a varié ici considérablement, car

nous nous proposons de rechercher s'il existe un rapport entre la durée de l'exposition et la grandeur de l'effet de l'induction mitogénétique. Nous avons donc exposé les cultures de *B. megatherium* devant trois cœurs de grenouille à des intervalles d'une, deux, trois, quatre, huit, dix et quarante minutes, et devant quatre cœurs pendant vingt minutes. Une fois l'induction terminée, les deux portions de la culture bactérienne furent transvasées dans des éprouvettes stériles et placées à l'étuve de 27° à 30° pendant trois à quatre heures. Une seule fois, les deux portions de la culture étudiée furent laissées à 48° pendant cinq heures. On procède ensuite à la numération des bactéries à la manière ordinaire et sur 4 échantillons.

Les résultats obtenus (tableaux VIII et IX) montrent que le cœur de grenouille en contraction rythmique est capable d'influencer non seulement la rapidité du bourgeonnement des levures, comme l'ont montré les expériences de Frank, mais aussi la rapidité de la division du *B. megatherium*. En effet, dans toutes nos expériences, sauf dans les expériences n°s 8 et 9, dont il sera question plus loin, le nombre total des bactéries dans la portion exposée de la culture est bien plus considérable que dans la portion témoin : l'expérience n° 3 donne l'effet maximum de l'induction mitogénétique (+ 91,4 p. 100), la portion exposée contenant dans 1 cent. cube 27.840.000 bactéries de plus que la portion non exposée. Dans l'expérience n° 7, où la différence entre les nombres totaux des deux portions de la culture bactérienne est de 23.232.000 bactéries pour 1 cent. cube, l'effet mitogénétique est égal à 42,9 p. 100. Dans l'expérience n° 4 l'effet mitogénétique est assez considérable (+ 35,8 p. 100). Dans toutes les autres expériences, surtout dans celles des n°s 1, 8 et 9, il est sensiblement plus faible.

Nous avons réussi pour la première fois à observer une certaine correspondance entre la durée de l'irradiation et l'effet mitogénétique de l'induction. Le facteur *temps* offre donc ici une importance plus considérable que dans les précédentes expériences, comme on pourra le constater en comparant les données du tableau VIII avec celles des tableaux I et VI.

Les résultats des expériences n°s 8 et 9 sont particulièrement intéressants. Dans l'expérience n° 8, la culture en bouillon de *B. megatherium* était exposée à trois cœurs de grenouille

dont un était beaucoup plus gros que les deux autres (augmentation de la surface irradiante), pendant quarante minutes. Dans l'expérience n° 9, devant quatre cœurs de grenouille isolés, pendant vingt minutes. Dans ces deux cas, les effets positifs de l'induction ont été très faibles. Par conséquent, une forte augmentation des temps de pose, non seulement n'augmente pas l'effet mitogénétique positif, mais l'abaisse considérablement. De même, une irradiation mitogénétique trop brève agit dans le même sens. Ainsi, dans l'expérience n° 1, où la suspension bactérienne était exposée à l'action des trois mêmes cœurs pendant une minute seulement, l'augmentation de la population microbienne dans la portion exposée ne dépasse que de 9,8 p. 100 le nombre total des bactéries de la portion témoin. Par contre, les résultats des expériences n°s 2, 3, 4, 5, 6 et 7, où la culture de *B. megatherium* fut successivement exposée à l'irradiation des cœurs isolés pendant deux, trois, quatre, six, huit et dix minutes, sont nettement différents.

Les résultats positifs furent : + 21,6 p. 100, + 91,1 p. 100, + 37,6 p. 100, + 24,4 p. 100, + 14,7 p. 100 et + 42,9 p. 100. En comparant ces résultats, nous voyons qu'une durée d'exposition d'une minute ne suffit pas à provoquer une induction mitogénétique. L'effet positif de l'induction ne se manifeste nettement qu'à partir d'une pose de deux minutes. Une pose de trois minutes donne l'effet positif maximum. Lorsque les temps de pose sont de quatre, six et huit minutes, l'effet mitogénétique positif s'abaisse graduellement. Cet effet augmente à nouveau pour une pose de dix minutes, puis il s'abaisse jusqu'à devenir nul lorsqu'on prolonge l'irradiation.

La relation entre la durée de l'irradiation mitogénétique et l'effet positif de l'induction nous paraît ici tellement régulière que, portant en abscisses les temps de pose et en ordonnées l'effet de l'induction mitogénétique, nous réussissons à représenter graphiquement les résultats obtenus. Ces graphiques donnent une courbe progressivement régulière (fig. 4).

Les données expérimentales consignées dans les tableaux annexes, malgré leur insuffisance quantitative évidente, montrent que le cœur de grenouille en contraction rythmique représente une source d'énergie mitogénétique, qui se prête mieux que les autres inducteurs à un contrôle biologique et



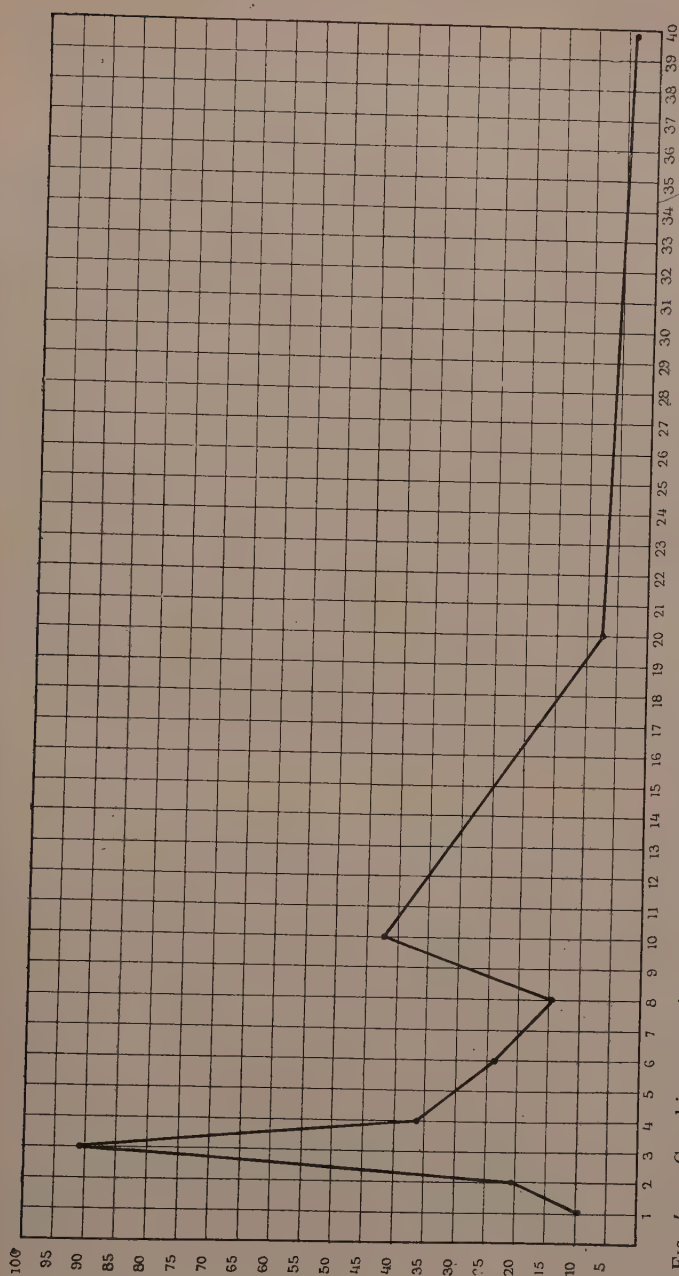


Fig. 4. — Graphique représentant l'effet d'induction en fonction de la durée de l'irradiation par le cœur de grenouille. Temps (en minutes) en abscisses; effet mitogénétique p. 100 en ordonnées.

permet d'établir une relation entre la durée de l'irradiation et l'effet d'induction.

Il ressort de ces expériences que : 1° le cœur de grenouille fraîchement isolé est capable, lorsqu'il est en état de contraction rythmique, d'émettre un rayonnement mitogénétique qui, en agissant à distance sur une suspension de *Bac. megatherium*, augmente son pouvoir de division cellulaire de 38,4 p. 100 en moyenne; 2° le rayonnement mitogénétique du cœur agit sur le *Bac. megatherium* avec une force qui dépasse presque de deux fois celle des levures, et dont l'action est elle-même deux fois plus faible que celle des muscles tétanisés; 3° l'effet mitogénétique produit par le cœur de grenouille en contraction rythmique sur le *Bac. megatherium* dépend très étroitement de la durée de l'induction : une pose d'une minute ne donne encore presque rien; des poses de vingt minutes, avec 4 cœurs, et de quarante minutes, avec 8 cœurs, ne donnent absolument rien. L'effet maximum de l'induction mitogénétique est obtenu avec une pose de trois minutes. A partir de ce temps, on observe un rapport inverse entre la durée de l'exposition et l'effet de l'induction : plus l'exposition est longue et moins son effet se fait sentir. Ces conclusions ne portant que sur 9 expériences ne peuvent être considérées que comme provisoires.

#### V. — INDUCTION MITOGÉNÉTIQUE DU « *BAC. MEGATHERIUM* » PAR LA RATE DE GRENOUILLE.

Nous avons complété nos recherches par l'étude de l'influence mitogénétique de la rate sur le *Bac. megatherium*. Effectués avec un matériel relativement restreint, tous ces essais doivent être considérés comme des expériences d'orientation. Nous y fûmes conduite par le travail de A. N. Sorin, qui étudia le pouvoir mitogénétique du sang hémolysé et du sang circulant (veine abdominale de grenouille). Le sang apparaissant ici comme source d'un rayonnement mitogénétique puissant, nous avons lieu de présumer que les organes hématopoïétiques, tels que la rate et la moelle osseuse, devaient être doués du même pouvoir mitogénétique.

INDUCTEUR. — Pour préparer l'inducteur, on enlève les rates

de grenouilles fraîchement sacrifiées et on les rince soigneusement dans l'eau physiologique afin de les débarrasser des dernières traces de sang. La rate ainsi préparée était employée dans diverses conditions : une fois, entière, avec la membrane intacte, une autre fois, dépourvue de membrane et partagée en deux. Signalons tout de suite que l'enlèvement de la membrane et la section de la rate en deux parties, contrairement à notre attente, n'ont pas augmenté l'effet positif de l'induction.

Nous avons employé une fois trois rates, une fois quatre rates et quatre fois cinq rates. Dans les expériences 3, 4, 5 et 6, nous nous sommes servi des mêmes rates dans les quatre essais successifs. Il est important de noter que les résultats dépendent de l'état de santé des animaux d'expérience : les rates de jeunes grenouilles récemment capturées (expérience 1), quoique utilisées en quantité moins considérable, ont provoqué un résultat mitogénétique plus prononcé que les rates des animaux également jeunes, mais fortement amaigris par leur séjour prolongé dans l'aquarium (essais 3, 4, 5 et 6).

DÉTECTEUR. — Nous avons utilisé exclusivement le *Bac. megatherium* en culture en bouillon âgée de quatorze à quinze heures. On se servait pour chaque expérience de 2 cent. cubes de cette culture.

DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL. — Le dispositif expérimental employé était identique à celui de l'expérience précédente, à cela près que la distance entre l'inducteur et le détecteur était réduite au minimum. Parfois même, les rates ont été appliquées directement sur le fond de quartz cristallin de la chambre expérimentale. Les rayons mitogénétiques éventuels étaient, comme dans tous les essais précédents, dirigés de bas en haut.

Sauf dans les expériences 2 et 3, où l'exposition durait le même temps (dix minutes), les temps de pose ont varié : cinq, quinze, vingt et sept minutes. L'exposition terminée, la portion exposée de la culture et la portion témoin ont été placées à l'étuve de deux à cinq heures. Pour dénombrer les bactéries dans chaque lot, nous avons prélevé quatre échantillons de chaque portion, soit 8 échantillons par essai. Les préparations de l'expérience 3 ont été comptées suivant la méthode de

TABLEAU X. — Induction mitogénétique du *Bac. megatherium* par la rate de grenouille.

NUMÉRO DES EXPÉRIENCES	ÂGE DE LA CULTURE	INDUCTEUR	QUANTITÉ DE SUSPENSION bactérienne employée en cent. cubes	DURÉE DE L'INDUCTION mitogénétique en minutes	DURÉE DE LA PÉRIODE post-inductive en heures	NOMBRE DE BACTÉRIES dans 1 cent. cube de suspension bactérienne avant l'induction	NOMBRE DE BACTÉRIES dans 1 cent. cube de portion exposée	NOMBRE DE BACTÉRIES dans 1 cent. cube de portion témoin	DIFFÉRENCE	EFFET MITOGÉNÉTIQUE p. 100
1	<i>Bac. megatherium</i> : 15 heures.	Trois rates.	2	10	5 à 30° C.	7.420.000	126.544.000	76 296.000	+ 30 248.000	+ 65,8
2	<i>Bac. megatherium</i> : 15 heures.	Quatre rates.	2	15	4,15 à 30° C.	2.0 0.000	31.125 000	27 515 000	+ 3.610.000	+ 13,1
3	<i>Bac. megatherium</i> :	Cinq rates	2	40	4 à 25° C.	5.831.000	47.870.000	43 920 000	+ 3.950.000	+ 23,3
4	<i>Bac. megatherium</i> : 14 heures.	Cinq rates	2	5	4 à 25° C.	7.831.000	23.830.000	19.401.000	+ 4 429 000	+ 22,8
5	<i>Bac. megatherium</i> : 14 heures.	Cinq rates.	2	20	2,45 à 25° C.	8.572.000	13.910 000	14 040 000	— 430.000	— 0.9
6	<i>Bac. megatherium</i> : 15 heures.	Cinq rates.	2	7	2 30 à 25° C.	7.421.0 0	47 437 000	18 173.000	— 760 000	— 4,0



Breed ; les préparations de toutes les autres expériences suivant la méthode de Koroleff. Nous avons cette fois examiné 240 champs microscopiques par essai.

Nous voyons dans le tableau X que, sur 6 expériences, nous avons 2 résultats faiblement négatifs (— 0,9 p. 100 et — 4 p. 100). Ce n'est que dans la première expérience où nous avons employé des rates de jeunes grenouilles récemment capturées que nous avons observé un effet mitogénétique positif très prononcé

TABLEAU XI. — Vitesse comparée de la multiplication du *Bac. megatherium* dans les portions exposées et dans les portions témoins des cultures bactériennes irradiées par la rate de grenouille.

NUMÉRO des expériences	PORTION exposée	PORTION témoin	DURÉE de l'induction mitogénétique en minutes	DURÉE de la période post-inductive en heures
1 . . . . .	17,07	10,28	10	5 à 30° C.
2 . . . . .	15,5	13,1	15	4,15 à 30° C.
3 . . . . .	3,0	2,38	10	4 à 25° C.
4 . . . . .	3,0	2,4	5	4 à 25° C.
5 . . . . .	1,62	1,63	20	2,45 à 25° C.
6 . . . . .	2,3	2,4	7	3,20 à 25° C.
Données moyennes. . .	7,07	5,43	11	4,15

(+ 65,8 p. 100). Mais, ce qui nous intéresse plus spécialement, ce sont les résultats des expériences effectuées avec les mêmes rates (3, 4, 5 et 6). Les rates utilisées dans ces expériences provenaient d'animaux en état d'inanition. Bien que nous ayons employé jusqu'à cinq rates sectionnées, l'effet mitogénétique fut relativement peu marqué. Ces expériences mettent en lumière le phénomène de l'épuisement graduel du pouvoir mitogénétique de l'inducteur. En effet, la première expérience de cette série (3), dans laquelle la culture bactérienne était exposée pendant dix minutes, donna un effet positif de + 28,9 p. 100 ; dans l'expérience suivante (4) où le temps de pose était de cinq minutes, le résultat positif de l'induction était encore égal à + 22,8 p. 100. Dans la troisième expérience (5),

où la durée de l'exposition a atteint vingt minutes, nous n'avons observé aucun effet mitogénétique positif. On pourrait supposer, au premier abord, qu'il s'agit d'un phénomène de dépression mitogénétique dû à l'excès du matériel inducteur ou à la durée trop prolongée de l'irradiation. L'expérience suivante (6) prouve qu'il n'en est rien, puisqu'en exposant le *B. megatherium* aux 5 mêmes rates, pendant sept minutes seulement, nous avons obtenu un effet nettement négatif.

La rate de grenouille peut donc être considérée comme une source de rayonnement mitogénétique capable d'accroître la multiplication du *B. megatherium* de 32,5 p. 100 en moyenne si nous considérons les résultats positifs seuls, et de 20,8 p. 100 en moyenne si nous faisons entrer en ligne de compte les résultats négatifs, visiblement dus à l'épuisement du pouvoir mitogénétique de l'inducteur.

#### RÉSUMÉ.

1° Les bactéries, qui se multiplient plus rapidement que les levures et les cellules des tissus végétaux, conviennent mieux que ces dernières à l'étude du rayonnement mitogénétique, d'autant plus qu'elles se prêtent mieux à une numération exacte. Elles représentent donc un détecteur très précis, supérieur aux levures et surtout aux racines.

2° Les levures *Nadsonia* fraîchementensemencées, les muscles téтанisés, le cœur en contraction rythmique et la rate de grenouille émettent un rayonnement mitogénétique capable de provoquer à distance un accroissement remarquable du pouvoir de division cellulaire des bactéries.

3° Les quatre sources de rayonnement mitogénétique étudiées diffèrent par leur intensité: les muscles téтанisés de grenouille sont capables d'augmenter la population microbienne, dans les cultures soumises à leur action, de 76,82 p. 100 en moyenne par rapport aux cultures témoins; — le cœur en contraction rythmique, de 38,4 en moyenne; — la rate, de 32,5 p. 100; les levures (*Nadsonia*), de 21,9 p. 100.

4° Les fluctuations individuelles de la vitesse de multiplication dans les cultures bactériennes non exposées au rayonnement, mais soumises par ailleurs aux mêmes conditions, sont



seulement de 0,46 p. 100 en moyenne. Les effets mitogénétiques observés conservent donc toute leur signification.

5° Dans les expériences effectuées avec les levures, les muscles et la rate de grenouille, les effets mitogénétiques ne dépendent (dans les limites étroites où ces facteurs ont varié), ni de la durée de l'exposition, ni de l'âge des bactéries, ni de la quantité de substance inductrice, ni de la distance entre l'inducteur et le détecteur.

6° Dans les expériences faites avec le cœur en contraction rythmique, l'effet mitogénétique dépend très étroitement de la durée de l'induction : il s'accroît jusqu'à une durée optimale d'exposition, puis diminue pour les expositions de plus longue durée.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. GOURWITCH (A.). *Arch. Entw. mechan.*, à partir de 1923 (28 communications) et la monographie : *Das Problem der Zellteilung*. Berlin, 1926.
2. GOURWITCH (A.), Über ultraviolette Chemolumineszenz der Zellen in Zusammenhang mit dem Problem des Carcinomas. *Bioch. Zeits.*, 196, 1928.
3. FRANK (G.) et POPOFF, Le rayonnement mitogénétique du muscle en contraction. *C. R. Acad. Sciences*, 188, p. 1010.
4. REITER et GABOR. *Zellteilung und Strahlung*, Berlin, 1928.
5. MAGROU (J. et M.), Recherches sur les radiations mitogénétiques. *Bull. Histolog. appl.*, 1927, 4.
6. MAGROU (J.), MAGROU (M.) et CHOUKROUN. Action à distance du *Bacterium tumefaciens* sur le développement de l'œuf d'oursin. *Bull. Inst. Océanographique*, n° 536, 1929.
7. MAXIA (C.), Intensificazione della segmentazione di uova di *Paracentrotus lividus* sotto l'influenza di radiazioni mitogenetiche. *R. Comit. Talassorg. Ital.*, Mem. CLV, 1929.
8. SIEBERT (W. W.), Über eine neue Beziehung von Muskeltätigkeit zu Wachstumsvorgängen. *Z. klin. Med.*, 1928, 109.
9. WAGNER (N.), Über mitogenetische Strahlen. *Planta (Berl.)*, 1928, 5.
10. SCHWARZ (W.), Das Problem der mitogenetischen Strahlen. *Biol. Zbl.*, 1928, 48.
11. GUTTENBERG (H. v.), Die Theorie der mitogenetischen Strahlen. *Biol. Zbl.* 1928, 48.
12. BREED (Robert S.), The determination of the number of Bacteria in milk by direct microscopical examination. *Zbl. Bacter.*, II Abt. 1911, 30.
13. KOROLEFF (S.), Nouvelle méthode pour la numération directe des cellules sous microscope, etc. *Bull. de l'Inst. de Wologda*, n° 76-77 (en russe).
14. SORIN (A. N.), Zur Analyse der mitogenetischen Induction des Blutes. *Arch. für Entwick.*, 108, 1926.

Le Gérant : G. MASSON.

